

ELEKTROPHYSIOLOGISCHE
UND NEUROANATOMISCHE
UNTERSUCHUNGEN AN NEURONEN
DES COLLICULUS SUPERIOR DER
ECHOORTENDEN FLEDERMAUS
EPTESICUS FUSCUS
(VESPERTILIONIDAE)

Catherine Poussin

*Duss
d'Amichen
1905*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

ELEKTROPHYSIOLOGISCHE UND NEUROANATOMISCHE UNTERSUCHUNGEN
AN NEURONEN DES COLLICULUS SUPERIOR DER ECHOORTENDEN
FLEDERMAUS EPTESICUS FUSCUS (VESPERTILIONIDAE)

Dissertation der Fakultät für Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Vorgelegt von
Catherine Poussin
aus Royan

München 1984

1. Berichterstatter : Dr. P. Schlegel

2. Berichterstatter : Pr. G. Neuweiler

Tag der mündlichen Prüfung : 14. Januar 1985



Inhaltsverzeichnis

Teil I: Elektrophysiologische Untersuchung des Colliculus superior der Fledermaus Eptesicus fuscus.

	Seite
1. Zusammenfassung.....	1
2. Einleitung.....	3
3. Material und Methoden.....	6
3.1 Material	6
3.2 Methoden	7
3.2.1 Operation	7
3.2.2 Vorbereitungen am ersten Ableittag	7
3.2.3 Ableitverfahren	9
3.2.4 Reizung	10
3.2.5 Versuchsverfahren	11
a) Suchphase	11
b) Ableitung	12
3.2.6 Auswertung	13
a) Einstichlokalisierung	13
b) Histogrammauswertung	13
3.2.7 Aufbereitung des Gehirns	15
4. Ergebnisse.....	18
4.1 Lage der Penetrationen im SC	18
4.2 Hörcharakteristika der Neurone	19
4.2.1 Minimalschwellen der Gesamtheit aller abgeleiteten Neurone	21
4.2.2 Beste Frequenzen von SC-Neuronen	22
4.2.3 Tonotopie	23
4.2.4 Frequenzabstimmkurven und Q_{10dB} -Werte	24
4.2.5 Aktivitätsmuster	25

4.2.6 Latenzen einzelner SC-Neurone	27
4.2.7 Intensitätskennlinien	27
4.3 Richtungsempfindlichkeit der SC-Neurone	30
4.3.1 Verteilung der besten Winkel	30
4.3.2 Topographie	31
4.3.3 Antwort in Abhängigkeit vom Azimuthwinkel der Schallquelle	31
a) Antwort auf CF und FM Reize	31
b) Reaktion bei Links- bzw. Rechtsbewegung	34
4.3.4 Bewegung des Lautsprechers in fünf verschiedenen Ebenen	35
4.3.5 Zwei Typen winkelcodierenden Zellen	35
a) Richtungsstabiler Typ	35
b) Richtungsinstabiler Typ	37
4.3.6 Rezeptive Felder einzelner SC-Neurone	37
4.3.7 Antwort auf Lichtreize	37
5. Diskussion.....	40
5.1 Lage der abgeleiteten Zellen	40
5.2 Hörcharakteristika	40
5.3 Richtungsempfindlichkeit	43
5.4 Antwort auf somatosensorische und visuelle Reize	48
6. Literaturverzeichnis.....	49

Teil II: Neuroanatomische Untersuchung der SC-Projektionen
bei der Fledermaus Eptesicus fuscus.

1. Zusammenfassung.....	53
2. Einleitung.....	55
3. Material und Methoden.....	57
3.1 Meerrettichperoxidasemethode	57

3.1.1 Operation	57
3.1.2 Injektion des Tracers	57
a) Festinjektion	57
b) Iontophoretische Injektion	58
3.1.3 Überlebenszeit	58
3.1.4 Perfusion	58
3.1.5 HRP-Reaktion	59
a) Tetramethylbenzimid (TMB)	59
b) Diaminoethylbenzidine (DAB)	60
3.2 Fluoreszenztracer-Methode	61
3.2.1 Injektionsverfahren und Überlebenszeiten	64
3.2.2 Perfusion	64
3.2.3 Einbetten, Einfrieren und Schneiden	65
3.2.4 Auswertung	65
4. Ergebnisse.....	66
4.1 Lage und Struktur des Colliculus superior	66
4.1.1 Lage des Kernes	67
4.1.2 Struktur des Colliculus superior und Zelltypen	67
a) Struktur des Colliculus superior	67
b) Zellstruktur	69
4.2 Tracer-Experimente	71
4.2.1 Meerrettichperoxidase-Experimente	71
a) Injektionsorte	71
b) Faserbündel	73
c) Zum SC projizierende Hirnstrukturen	75
4.2.2 Fluoreszenztracer	79
a) Injektionsorte	79
b) Zum SC projizierende Hirnstrukturen	82
5. Diskussion.....	87
5.1 Methoden	87
5.2 Injektionsorte	88
5.3 Faserbündel	90
5.4 Projektionen	92
5.5 Allgemeine Diskussion	96
6. Literaturverzeichnis.....	100

Teil I: Elektrophysiologische Untersuchung des Colliculus superior der Fledermaus Eptesicus fuscus.

1. Zusammenfassung

- 1.1 Im Colliculus superior (SC) der echoortenden Fledermausart Eptesicus fuscus (Microchiroptera, Vespertilionidae) wurden Einzelzellaktivitäten abgeleitet. Die Richtungsempfindlichkeit der Neurone wurde mit konstantfrequenten- (CF) und frequenzmodulierten- (FM) Hörreizen im akustischen Freifeld untersucht. Die Hör- und Richtungscharakteristika von 197 isolierten Zellen wurden bestimmt.
- 1.2 Die Elektrodeneinstiche im Colliculus superior wurden stereotaktisch bestimmt. Durch die Ableitungen wurde der gesamte SC erfaßt.
- 1.3 Die Minimalschwellen der empfindlichsten SC-Neurone stimmen mit dem Verhaltensaudiogramm dieser Fledermaus überein.
- 1.4 Die Ergebnisse weisen weder auf eine tonotope Frequenzrepräsentation noch auf eine topographische Hörraumrepräsentation im SC hin.
- 1.5 Die Hörcharakteristika der SC-Neurone besitzen große Ähnlichkeit mit denen aus dem Kleinhirn derselben Fledermausart: die Abstimmkurven sind relativ breit und decken somit jeweils einen großen Frequenzbereich ab. Die Q_{10dB} -Werte liegen in einem Bereich von 1.75 bis 26, was mit Daten von anderen Laborsäugern übereinstimmt (maximale Q_{10dB} -Werte von 20); d.h. Eptesicus fuscus hat eine ähnliche Frequenzselektivität wie Laborsäuger.

- 1.6 Alle untersuchten Neurone zeigen ein phasisches Antwortmuster auf CF- sowie auf FM-Reize. Die Latenzen der SC-Neurone lagen zwischen 4 und 28 ms, ihre besten Frequenzen (BF) zwischen 17 und 85 kHz, und ihre besten Azimuthwinkel (BA) zwischen 0° und 50° contralateral zur Ableitseite. In der vertikale Richtung hatten alle isolierten Neurone ihren besten Elevationswinkel (BE) zwischen $+20^{\circ}$ (bezogen auf die Horizontalebene des Oberkiefers).
- 1.7 Antworten auf CF- und FM-Reize mit oder ohne Schallquellenbewegungen sind bis zu einer Winkelgeschwindigkeit von $26^{\circ}/s$ nicht unterschiedbar.
- 1.8 Die Neurone wurden bezüglich ihrer Richtungsempfindlichkeit in zwei Gruppen unterteilt:
- a) Die Zellen der ersten Gruppe zeigen bei der Darbietung der Schallquelle in der horizontalen Ebene bei verschiedenen Reizintensitäten immer etwa den gleichen BA (richtungsstabiler Typ).
 - b) Die Neurone der zweiten Gruppe reagieren bei zunehmender Schallintensität mit einer Verschiebung ihres BA zur Voraussichtung des Tieres hin (richtungsinstabiler Typ).
- 1.9 Die "rezeptiven Felder" der isolierten SC-Neurone sind, im Vergleich zu denen der Eule ($12-42^{\circ}$ Azimuth; $40-120^{\circ}$ Elevation) relativ groß bezüglich des Azimuth- ($90-120^{\circ}$) und Elevationswinkels ($80-100^{\circ}$).
- 1.10 Das Aktivitätsmuster der abgeleiteten Zellen änderte sich nicht, wenn zusätzlich Lichtreize präsentiert wurden. Wenn diese Lichtreize allein präsentiert wurden, antworteten die untersuchten Zelle nicht darauf.

2. Einleitung

Fledermäuse (Chiroptera) sind nachtaktive und fliegende Säugetiere. Alle Microchiropteren verwenden Ultraschalllaute (20-150 kHz) und die Echoortung, um sich in der Dunkelheit zu orientieren und Beute zu fangen (Griffin, 1958). Zusätzlich zu ihrer Hörempfindlichkeit im Ultraschallbereich, besitzen bestimmte Fledermausarten die Fähigkeit, auch im niederfrequenten Bereich recht gut zu hören. Dies wurde insbesondere für Eptesicus fuscus (Poussin und Simmons, 1982) sowie für Trachops cirrhosus (Ryan et al., 1983) und Megaderma lyra (Schmidt, 1983) nachgewiesen. Diese große Empfindlichkeit auch im niederfrequenten Bereich ermöglicht vermutlich diesen Arten, die Beute auch durch "passives Hören" zu lokalisieren (Buchler und Childs, 1981; Tuttle und Ryan, 1981). Diese Fähigkeit weist daraufhin, daß ihr Hörsystem genaue Informationen über den jeweiligen Ort, an dem sich die Beute im dreidimensionalen Raum befindet, aus den rückkehrenden Echos bzw. den Geräuschen, die von der Beute ausgehen, gewinnen kann. Man geht davon aus, daß diese Informationen zur exakten Steuerung der Motorik benutzt wurden: Zum einen müssen die Ohrmuscheln und der Kopf in Richtung zur Schallquelle hin orientiert werden, und zum anderen muß die gesamte Körpermotorik zur Einhaltung der Flugbahn eingesetzt und entsprechend der Situation gesteuert werden.

Der Colliculus superior, ein Teil der Vierhügelplatte im Mittelhirndach, wurde bei nicht echoortenden Säugern bzw. bei Eulen das optische Tectum, als wichtige Struktur für die Koordination von visuell und auditiv gesteuertem Verhalten im dreidimensionalen Raum eingeschätzt (Eule: Knudsen, 1982; Hase: Horn und Hill, 1966; Katze: Gordon, 1973; Meerschweinchen: King und Palmer, 1983, Palmer und King, 1982). Mit Seh- und Hörreizen, die systematisch aus allen Raumrichtungen geboten wurden, wurde der Winkelbereich in Azimuth und Elevation (bezogen auf die Körperlängsachse des Tieres) bestimmt, in dem eine Zelle antwortet. Diese räumlichen Bereiche wurden

als rezeptive Felder definiert. Dabei wurde jeweils dem Hören und dem Sehen ihr rezeptives Feld zugeordnet. Bei den bisher untersuchten Tieren sind stets die akustischen rezeptiven Felder einer Zelle wesentlich größer als die rezeptiven Sehfelder jedoch fallen die jeweiligen Zentren immer zusammen, wenn sowohl Ohren wie Augen in der jeweiligen Normalstellung gehalten werden, d.h. ohne Ohrmuschel- oder Augenbewegung (Gordon, 1973; Horn und Hill, 1966; King und Palmer, 1983; Palmer und King, 1982). Weiterhin soll der SC dafür sorgen, daß bei experimentell geblendeten Versuchstieren die Hörempfindlichkeit höher wird (Kellog, 1962; Rauschecker und Harris, 1983). Durch elektrische Reizung des SC wurde weiterhin gezeigt, daß er eine Rolle bei der Kontrolle der Ohrmuschelbewegungen spielt (Harris, 1980). Alle diese Befunde weisen daraufhin, daß der SC ein wichtiges Koordinationszentrum zwischen dem Höreingang und der Körpermotorik darstellt.

Bei Fledermäusen wurde der SC bisher von Jen et al. (1984) und Poussin und Schlegel (1984) neurophysiologisch untersucht. In der vorliegenden Arbeit wurden zunächst die hörphysiologischen Grundcharakteristika von Einzelzellen erfaßt. Die Ergebnisse über Minimalschwellen, Frequenzabstimmungseigenschaften, Latenzzeiten und Antwortmuster sollen mit entsprechenden Ergebnissen aus dem Cerebellum und dem Colliculus inferior (IC) derselben Fledermausart (Jen und Schlegel, 1980; 1982) verglichen werden.

Im Mittelpunkt der Arbeit stand die Erfassung der Richtcharakteristik einzelner Neurone. Die akustische Reizung erfolgte mittels eines schwenkbaren Lautsprechers mit dem Tier als virtuellen Drehpunkt (akustisches Freifeld). Während bei Eulen das Vorhandensein eng begrenzter rezeptiver Felder bei Neuronen des Nucleus mesencephalicus dorsalis (MLD, IC-homolog bei der Eule) nachgewiesen worden konnten (Knudsen, 1982), ist die Situation bei Säugern nicht so eindeutig (King und Palmer, 1983; Palmer und King, 1982). Bei Fledermäusen existiert nur eine Arbeit von Schlegel et al. (unveröffentlicht) über den IC von Vespertilioniden, die die Problematik der Richtcharakteristik einzelner Neurone bei Reizung im akustischen Freifeld anspricht.

Die Antwort auf Hörreize, die innerhalb des Hörraums (Ausschnitt aus einer Halbkugel) vor dem Tier präsentiert wurden, wurde untersucht, und die daraus eventuell zu erschließenden rezeptiven Felder (RFs) wurden aufgrund der gefundenen Richtcharakteristik bestimmt. Nachdem auf physiologischen Weg schallempfindliche Neurone gefunden worden waren, sollten neuroanatomische Untersuchungen die Verschaltung des SC bei der Fledermaus Eptesicus fuscus klären. Da bei anderen Tieren gezeigt wurde, daß der SC ein Integrationszentrum für Seh-, Hör-, und Tastinformationen ist (Rauschecker und Harris, 1983), schien es dann auch interessant zu sein nachzuprüfen, ob bei der Fledermaus ebenfalls visuelle, akustische, somatosensorische und eventuell weiterhin motorische Eingänge vorhanden sind (siehe Teil II dieser Arbeit!). Aufgrund der unterschiedlichen Darstellungsweise werden der physiologische und der anatomische Teil der Arbeit getrennt abgehandelt.

3. Material und Methoden:

3.1 Material

Dreizehn Eptesicus fuscus (Männchen und Weibchen, Microchiroptera, Vespertilionidae) mit einem Gewicht von 16 bis 26 g wurden insgesamt für die vorliegende Arbeit verwendet. Die Tiere stammten aus dem mittleren Westen der U.S.A. und der Provinz Quebec (Canada). Fünf davon wurden ausschließlich für die elektrophysiologischen und acht nur für die neuroanatomischen Untersuchungen des Colliculus superior (SC) verwendet. Diese Fledermausart erzeugt abwärts gerichtete frequenzmodulierte Echoortungslaute. Der dabei überstrichene Frequenzbereich liegt zwischen 25 und 82 kHz mit drei Harmonischen, von denen die erste die stärkste ist (siehe Abb. 1!).

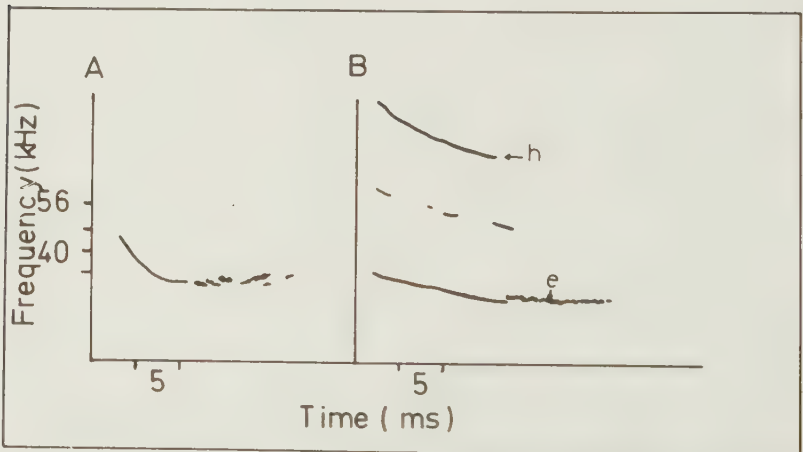


Abbildung 1: Sonogramm vom FM - Echoortungslaut der Fledermaus Eptesicus fuscus (nach Fenton und Thomas umgezeichnet; in Biotropica 12: 81-90, 1980).
A. Frequenzmodulierter Sweep (abwärts Modulation) mit konstantfrequentem (CF) Teil.
B. CF-Teil eines Lautes mit Echo (e) und Harmonische (h).

3.2 Methoden

3.2.1 Operation

Einen Tag vor der ersten Ableitung wurde das Tier durch eine intraperitoneale Injektion von Nembutal (2.5mg/100gr Körpergewicht) narkotisiert. Zur zusätzlichen Narkose diente bei Bedarf Äther. Die Fledermaus wurde in einer Unterkieferhalterung befestigt, die den Kopf festlegt. Nach Entfernung des Fells zwischen den Ohren (frontale und parietale Region) wurde die Haut zwischen beiden Ohren von rostral nach kaudal eingeschnitten, die Kopfmuskulatur mit einem Skalpellschnitt längs eröffnet, und Haut und Kopfmuskulatur zur Seite geschoben. Der Schädel über dem Cerebrum, den Colliculi superiores, den Colliculi inferiores und dem Cerebellum wurde von Blutgefäßen und restlicher Muskulatur befreit und mit 96%-igem Äthanol getrocknet. Zum späteren Festlegen des Kopfes in der Ableitapparatur wurde eine Niete von 2mm Durchmesser mit ihrem Kopf mittels Cyanoacrylatkleber (Uhu) und Zahnzement auf der Schädeloberfläche je nach Versuchsplan entweder über dem Cerebrum oder dem Cerebellum aufgeklebt (Suga und Schlegel, 1972). Dem Tier wurde dann 24 Stunden Erholzeit gegeben.

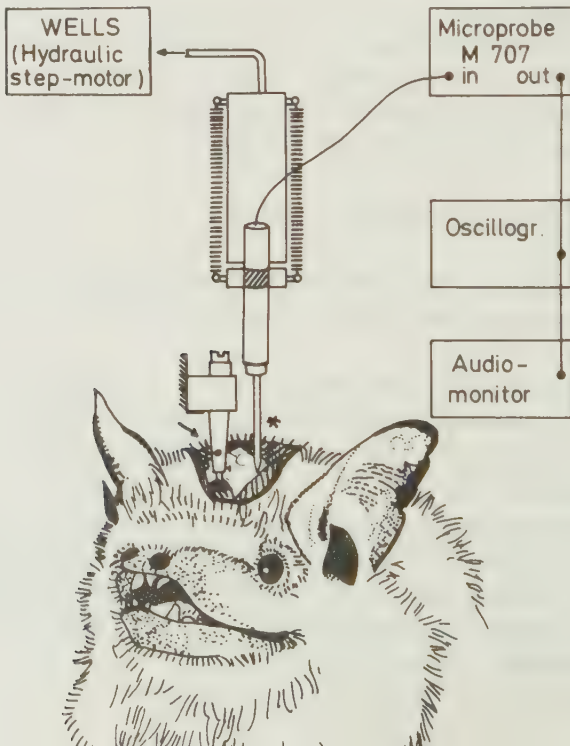
3.2.2 Vorbereitungen am ersten Ableittag

Am nächsten Tag wurde das Tier unter Äthernarkose mittels der aufgeklebten Niete in der Versuchsapparatur eingespannt (Abb. 2A).

Bei dieser Fledermausart liegt der Colliculus superior oberflächlich zwischen Großhirn und den Colliculi inferiores (IC). Ein Blutsinus läuft quer dazu unter dem Schädelknochen. Diese bilateralen Blutgefäße bilden daher geeignete äußere Landmarken zur Lokalisierung der Gehirnstrukturen im Schädelinneren (Abb. 2B). Um die Elektrode einzustechen, wurde über dem SC ein Loch mit Hilfe eines Kegelfräasers in den Schädelknochen gebohrt (etwa 1mm Durchmesser). An dieser Stelle ist der Schädelknochen doppelwandig: zwischen oberer und unterer Wand verläuft der Blutsinus. Die in einigen Fällen auftretenden

starken Blutungen wurden mit blutstillender Watte und Knochenwachs gestoppt. Die Ableitungen erfolgten am wachen Tier in einer echoarmen Kammer (Eigenbau P. Schlegel: Schallisolation nach außen besser als 40 dB über 10 kHz, 3-6 dB bei weniger als 1 kHz). Die Temperatur der Kammer wurde bei 27°C gehalten. Während des Versuches war ein Fixieren der Ohrmuscheln nicht notwendig, da Eptesicus fuscus im Gegensatz zu Fledermäusen der Familie Rhinolophidae ihre Ohren höchstens gelegentlich und minimal (visuelle Kontrolle) und keinesfalls in einer festen Phasenbeziehung zur Lautaussendung bewegt.

Abbildung 2A: Schematische Darstellung der Ableitapparatur (Größenverhältnisse stark verzerrt). Das Tier wird durch Festklemmen der Nieten eingespannt (Pfeil). Eine Mikroelektrode (*) wird durch das Loch in den SC eingestochen und mittels eines "Wells"-Vorschub tiefer eingeführt. Einzelzellaktivität wird von einem Impedanzwandler (WPI, M707) verstärkt und am Bildschirm eines Oszillographen und mit einem Audiomonitor überwacht.



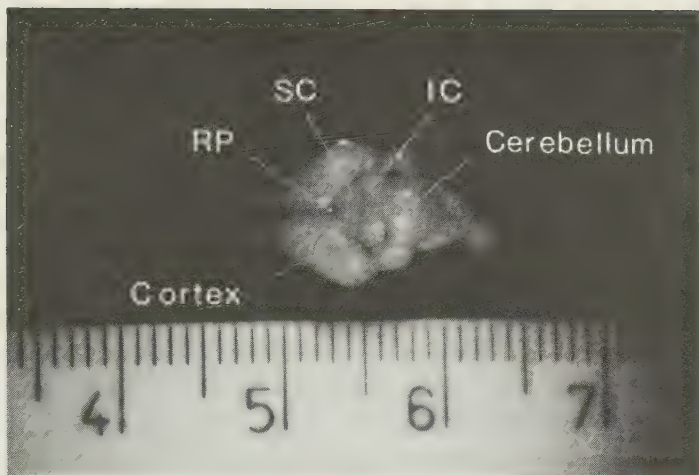


Abbildung 2B: Eptesicus fuscus-Gehirn von oben betrachtet. Das Bild stellt die im Text genannten Strukturen dar: IC: Colliculus inferior; RP: Referenzpunkt an der vorderen Kante des Colliculus superior (SC); Links rostral, rechts caudal; mitphotographierter Zentimetermaßstab.

3.2.3 Ableitverfahren

Der Kopf des Tieres wurde so orientiert, daß das Cerebrum und das Cerebellum in einer Horizontalebene zu liegen kommen. Dabei liegt auch der Oberkiefer in einer weiteren Horizontalebene. Der Schnitt dieser mit der Mediallinie des Tieres wird im Weiteren als Vorausrichtung bezeichnet.

Als vertikale Nullage für den Elektrodeneinstich wurde die Tiefe definiert, bei der die Elektrode gerade die Hirnoberfläche berührt. Die Penetrationen erfolgten immer senkrecht zu der oben beschriebenen Ebene.

Zur Ableitung wurden mit 3 molarem KCl gefüllte Glas-mikroelektroden (Elektroden Glas F. Häer, 1,5 mm Außendurchmesser) mit Spitzeninnendurchmessern kleiner als 1 μ m benützt. Die in situ gemessenen Widerstände lagen zwischen 5 und 20 M Ω . Die Elektrode wurde zuerst mit dem Mikromanipulator durch die Öffnung in den oberflächlich liegenden SC eingestochen. Zum weiteren Elektrodenvorschub in Vertikalerichtung diente ein "Hydraulic Microdrive" (Wells), der einen geeichten

Vorschub in 1 Micrometer-Schritten ermöglicht (Abb. 2A).

3.2.4 Reizung

Die Freifeldschallreizung erfolgte mittels eines Kondensatorlautsprechers (2 cm Durchmesser), der an einem Dreharm montiert war, dessen virtueller Drehpunkt zwischen den Ohrachsen des Tieres lag. Der Lautsprecher war 14cm vom Tier entfernt und konnte horizontal $\pm 90^\circ$ (Azimuth) und $\pm 60^\circ$ auf und ab (Elevation) um das Tier geschwenkt werden, sodaß die Positionen innerhalb eines 2/3 Ausschnitts aus einer Halbkugel vor dem Tier abgedeckt werden konnten.

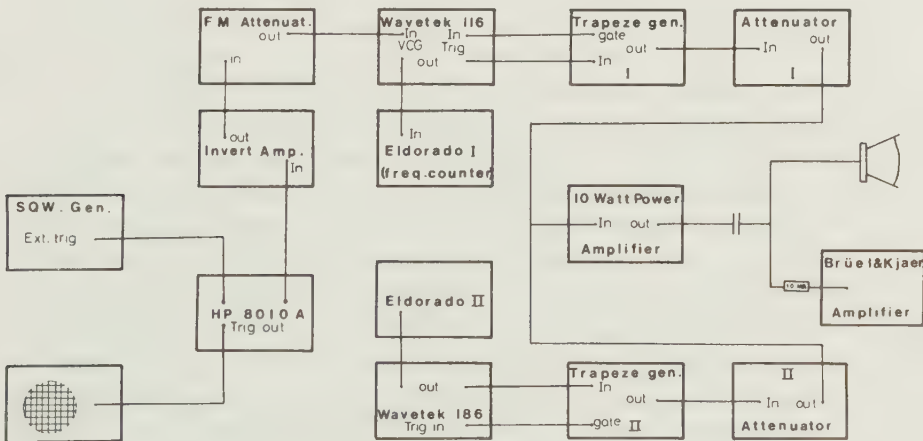
Als Hörreize wurden sowohl konstantfrequente (CF) als auch frequenzmodulierte (FM) Reize benützt. Die Umhüllende des CF- oder FM-Signals wurde von einem Pulsgenerator (Eigenbau, G. Schuller) gesteuert. Der gleichzeitig vom Pulsgenerator gelieferte "gate pulse" diente zugleich als Trigger für den Sinusgenerator, sodaß die Sinuswellen der Trägerfrequenz zur Umhüllenden "phase-locked" waren. Trägerwelle und Umhüllendenpuls wurden miteinander elektronisch multipliziert (Analog Device 532), sodaß die gewünschten Tonpulse entstanden. Für die Steuerung der FM-Signale wurde eine fallende Spannungsrampe zeitgekoppelt mit dem Umhüllendenpuls am VCG-Eingang des Sinusgenerators (Wavetek 116) angelegt. Diese Rampe wurde mittels eines Pulsgenerators (HP 8010A), eines Umkehrverstärkers mit Offset und eines Abschwächers (Eigenbau, P. Schlegel) produziert, und reproduzierbar (40kHz-Hub durch die Mittenfrequenz) gesteuert.

In beiden Fällen (CF und FM) wurde die Reizfrequenz, bzw. die Anfangsfrequenz des FM-Sweeps, mit einem Eldorado Frequenzzähler kontrolliert und über ein Interface (Eigenbau, G. Schuller) dem Computer "on line" zugeführt. Beide Reize konnten entweder getrennt oder in Paaren dargeboten werden (Abb. 3). Der FM-Reiz hatte eine Dauer von 2ms mit je 0,5ms Anstiegs- und Abfallflanken; 27ms später kam der 16ms lange CF-Reiz mit ebenfalls je 0,5ms Anstiegs- und Abfallflanken. Beide Reize wurden mit einer Taktfrequenz von 4Hz ausgelöst. Tonreize im Frequenzbereich von 10 bis 100 kHz wurden zur

Suche herangezogen.

Die absolute Reizintensität wurde mit Hilfe eines 1/4 Zoll Kondensatormikrofons (Brüel & Kjaer, Model 4135), das an der Stelle der Fledermaus in der Halterung befestigt war, und einem Meßverstärker (Brüel & Kjaer, Model 2606) mit Dauertönen geeicht. Die Frequenzantwortkurve des Lautsprechers selbst ist flach innerhalb $\pm 1,2$ dB bei Frequenzen über 25 kHz. Die maximal zur Verfügung stehende Reizintensität betrug 112 dB SPL (0 dB Abschwächung) bei Frequenzen über 25 kHz.

Abbildung 3: Schematische Darstellung der verwendeten elektronischen Apparatur zur Erzeugung der CF und FM-Reize (Siehe Beschreibung im Text).



3.2.5 Versuchsverfahren

a) Suchphase

Beide Reize (CF und FM) wurden bei der Suche von Einzelzellaktivität mit einer Intensität von 82 dB SPL alternierend präsentiert. In den ersten Versuchen wurde ebenfalls gepulstes weißes Rauschen als Testreiz angeboten.

Bei der Suche nach Aktivitäten stand der Lautsprecher zunächst in der Mitte, d.h. 0° vor dem Tier (Vorausrichtung), gelegentlich auch bei 30° contralateral zur Ableitseite. Während dieser Phase wurde die Elektrode stufenweise in 1um-Schritten (etwa 1um/s) in den SC vorgeschoben. Der Zähler des Schrittmotors gab die Tiefe der Elektrodenspitze (ebenfalls in um) an.

b) Ableitung

Die abgeleiteten Aktionspotentiale wurden von einem DC-Impedanzwandler (WPI Model 707) verstärkt und am Bildschirm eines Oscillographen dargestellt und auch über einen Audiomonitor überwacht.

Alle 197 Zellen wurden mit CF-Reizen getestet. Die ersten 80 Zellen wurden zusätzlich auch mit FM-Reizen untersucht. Die Schwellen für CF und FM wurden getrennt untersucht und die anderen Hörcharakteristika wie die beste Frequenz (BF, Frequenz geringster Schwellen), der beste Azimutwinkel (BA, Winkel, bei dem die höchste Entladungsrate gemessen werden kann), die Antwortmuster und die Frequenzabstimmkurve bestimmt.

Die Aufnahme der Antwort auf 50 aufeinanderfolgende CF- bzw. FM-Reize erfolgte "on line" mittels eines Laborcomputers (PDP 11/23) und wurde als "dot-displays" (jeder Punkt stellt ein Nervenimpuls dar) und "post-stimulus-time-Histogramm" (PST-Histogramm) zur Mittelung dargestellt (Abb. 4). Die Frequenz des CF-Reizes lag bei der BF, die auch als Mittenfrequenz des FM-Reizes diente (± 20 kHz-Hub). Abschwächungen wurden in 10 und teilweise (im Schwellenbereich) 5 dB-Schritten über den ganzen Dynamikbereich der Zelle getestet.

Zur Richtungsempfindlichkeitsmessung wurden fünf verschiedene horizontale Ebenen sowie eine vertikale Ebene bezogen auf die Vorausrichtung des Versuchstiers untersucht; die getesteten Ebenen (Breitenkreise) lagen bei: -40° und -20° nach unten, 0° , $+20^\circ$ und $+40^\circ$ nach oben. Bei dem besten horizontalen Winkel wurde abschließend eine vertikale Bewegung um $\pm 60^\circ$ durchgeführt.

Bei dieser Methode wurden auch die "Sweep-Histogramme" aufgenommen. Sweep-Histogramme geben die Summe der Antworten

eines Neurons auf fünf volle Hin- und Rückbewegungen der Schallquelle wieder. Der Beginn jedes Sweeps wurde mit der Bewegung von rechts nach links synchronisiert, sodaß während eines vollen Schwenks des Lautsprechers um 180° bei einer Reizfrequenz von $4/s$ alle 6.4° ein CF-Reiz fiel.

3.2.6 Auswertung

a) Einstichlokalisierung

Die Vorderkante des SC wurde als Referenzpunkt (RP) genommen und auf dem Knochen mit Tinte markiert. Die Lage der Penetration wurde durch die Koordinaten der Elektroden spitze zu diesem RP bestimmt (rostro-caudale und medio-laterale Richtung).

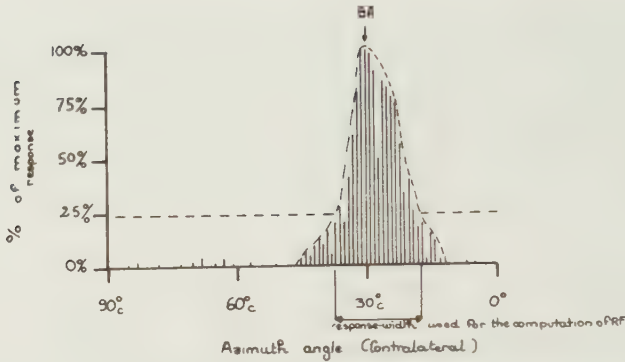
b) Histogrammauswertung

Die PST-Histogramme, die bei der BF und am BA der Zellen gewonnen wurden, erlaubten die Darstellung der Aktivität der Neurone als Funktion der Intensität (Intensitätskennlinien, Abb. 16) sowie die Aussage, ob die Zellen monoton oder nicht-monoton reagierten (vergl. Ergebnisse 4.2.7).

Sweep-Histogramme wurden für die Bestimmung des besten Azimuthwinkels sowie des Winkelbereichs, in dem die Zelle von ihrer Spontanaktivität verschieden antwortet (Antwortbreite) ausgewertet.

Die Größe der rezeptiven Felder einzelner Zellen wurde anhand winkelabhängiger Antworten bei fünf verschiedenen Elevationen und in einer vertikalen Ebene abgeschätzt (Abb. 22). Das rezeptive Feld wurde als der horizontale und vertikale Winkelbereich definiert, in dem die Antwort mehr als 25% des jeweiligen Maximalwerts entspricht (siehe Schema!).

Beste Frequenzen und beste Winkel wurden gegen die Lokalisierung der Neurone im SC (in einer rostrokaudalen sowie in einer mediolateralen Richtung) graphisch aufgetragen, um eine eventuelle Tonotopie bzw. Topographie (Hörraumpräsentation im SC) feststellen zu können.



Schema: Antwortbreite, die für die Berechnung des RFs benutzt wurde.

Die Q_{10} dB-Werte geben Auskunft über die Güte der Frequenzabstimmung der Neurone:

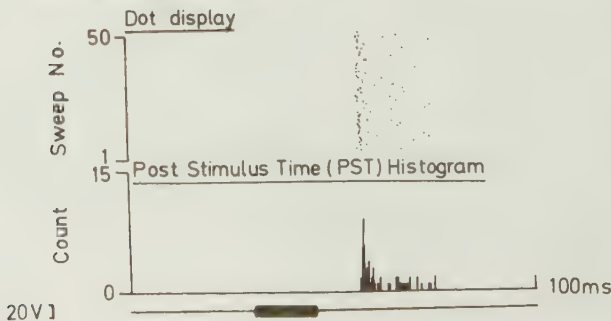
Beste Frequenz des Neurons

Q_{10} dB-Wert = -----

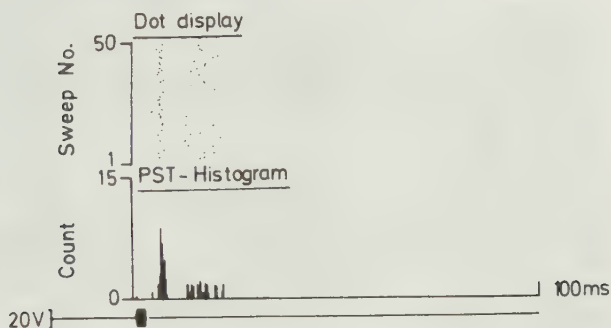
Breite der Frequenzabstimmung 10dB über der Schwelle

Abbildung 4: SC-Einzelzellantwort auf 50 CF- (A, CF=BF) und FM-Reize (B, Mittenfrequenz bei der BF+20 kHz). Die Neuronenaktivität ist in Form von PST-Histogrammen jeweils unten und von Dot-displays darüber (alle auftretenden Nervenimpulse als Punkte wiedergegeben) dargestellt. Die Reize sind als schwarze Trapeze unter den PST-Histogrammen in ihrer Zeitrelation zur Erregung (eingeschlossen des akustischen Delays von 0,5ms) gezeichnet. Beide Reize wurden mit einer Intensität von 52 dB SPL bei einer Lautsprecherposition von 30° contralateral zur Ableitseite in der horizontalen Ebene dargeboten. Die 100 ms beziehen sich auf die Abszisse.

A. Response to CF stimuli



B - Response to FM stimuli



3.2.7 Aufbereitung des Gehirns

Um die stereotaktischen Daten mit dem benützten Gehirn zu vergleichen, d.h. die Lokalisation der Elektroden-trakte und Ableitorte anhand morphologischer Kriterien zu verifizieren, wurde das Tier nach der letzten Ableitung mit einer Überdosis Nembutal (6mg Nembutal pro 100g Körpergewicht) getötet. Danach wurde das Gehirn schnell herauspräpariert und in gepuffer-tem 4%-igen Formalin in mehreren Stufen mit zunehmenden Zuckerkonzentrationen 4 Tage lang fixiert.

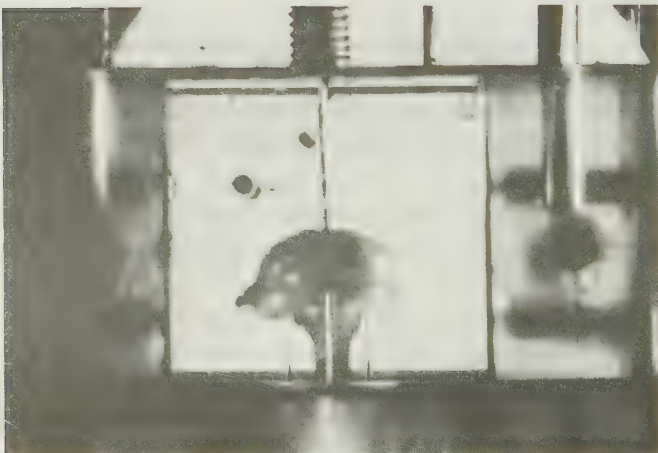
Um eine reproduzierbare Schnittebene zu bekommen, wurde das Gehirn in einer Plexiglasform justiert. Die Einbettform (S. Radtke/G. Schuller) besitzt drei dünne Nadeln, die in ihren Höhen einstellbar sind. Das Gehirn wurde dann so darauf plazi-ert, daß das Cerebrum und das Cerebellum in derselben Ebene liegen (Abb. 5). An der Einbettform befinden sich Markierungen zur richtigen Plazierung des Gehirns im Block, die mit der Fissura Cerebri und der Fissura mediana anterior des Rückenmarks korrespondieren. Das Gehirn wurde in Eidotter eingebettet (Eidotter, 10% Zucker, 7% Glutaraldehyd) und bei -14° Celsius im Kryostat 48µm dick in der Frontalebene geschnitten.

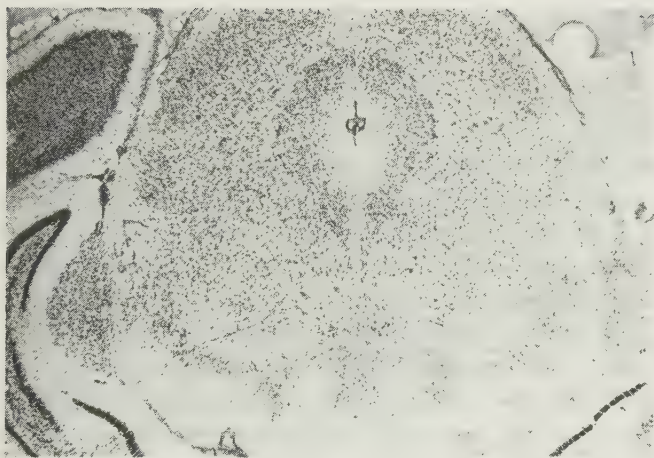
Die Gefrierschnitte wurden direkt auf beschichtete Objektträger (Gelatin/Chromalaun) aufgezogen und nach einer modifizierten Nisslmethode (Burck, 1973) mit Kresylechtviolett (Zellfärbung) oder nach dem Reesverfahren (Rees, 1973; Zell- und Faserfärbung) mit Neutralrot gegengefärbt (Abb. 6).



Abbildung 5: A) *Eptesicus fuscus* Gehirn in der Plexiglaseinbettform justiert. Cerebrum und Cerebellum liegen in derselben Ebene.

B) Einbettform von vorne betrachtet. Mann kann die drei in ihrer Höhe einstellbaren, dünnen Nadeln sehen.

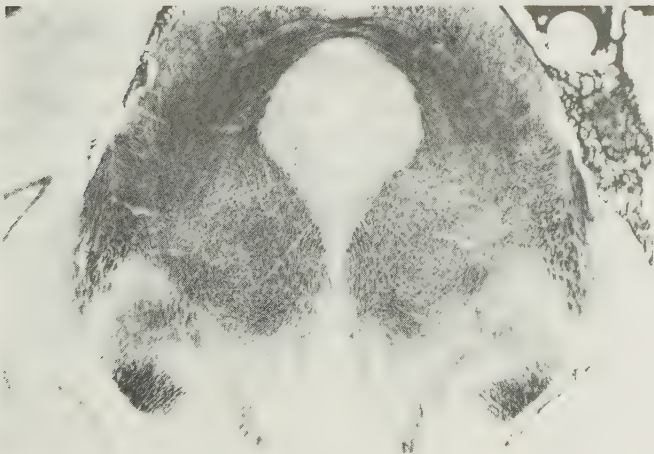




———— 1000 μ m

Abbildung 6: A. Frontaler Schnitt in der Ebene des Colliculus superior, der mit Kresylechtviolett nach dem Nissilverfahren gegengefärbt wurde. Abkürzungen: CGM: Corpus Geniculatum mediale; PAG: Höhlengrau; PC: pedunculus cerebri; SC: Colliculus superior.

B. Nachbarschnitt, dessen Fasern und Zellen nach dem Reesverfahren gegengefärbt wurden.



———— 1000 μ m

4. Ergebnisse

Schallempfindliche Neurone waren im SC dieser Fledermaus etwa ebensogut wie im IC von Eptesicus fuscus oder Myotis lucifugus und bei Molossus ater und Molossus molossus (Vater et al., 1979) zu finden, da bei insgesamt 80 Elektrodenpenetrationen von 197 Neuronen zumindest hörphysiologische Grunddaten sowie die besten Azimuthwinkel gewonnen werden konnten. Um von einer Zelle Grunddaten (BF, Antwortmuster, Frequenzabstimmkurve, Intensitätskennlinien) und vollständige richtungsspezifische Ergebnisse zu bekommen mußte man mindestens eine Stunde ableiten können. Schallempfindliche Zellen wurden im Stratum griseum intermediale und im Stratum griseum profundum des Colliculus superior (500-1600 μ m) gefunden.

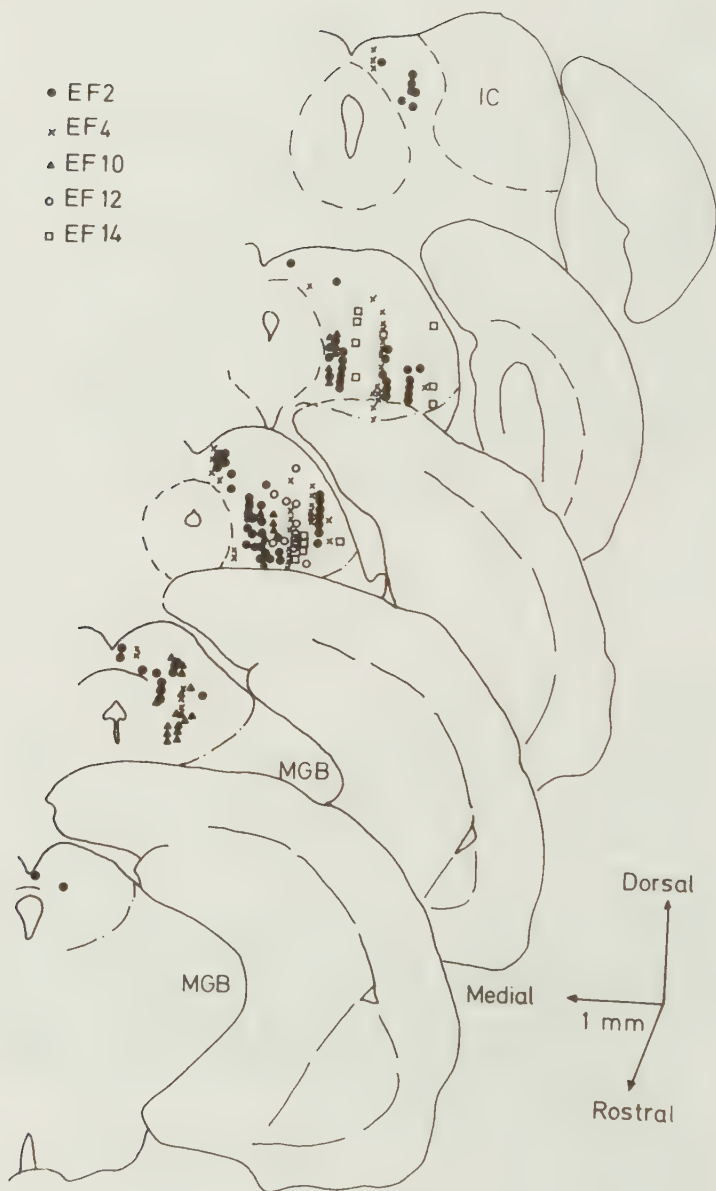
4.1 Lage der Penetrationen im SC

Im Colliculus superior von fünf Tieren wurden die Elektrodenpenetrationen mittels einer stereotaktischen Apparatur in Relation zu ihrem Referenzpunkt (RP) lokalisiert. Abbildungen 7A und 7B stellen die Lage der Elektrodeineinstiche an der Oberfläche des Gehirns in diesem Mittelhirnkern dar. Es zeigt sich, daß der Colliculus superior in der gesamten rostro-caudalen und medio-lateralen Ausdehnung untersucht worden ist. Hörempfindliche Neurone wurden in den ventralen Bereichen des SC typischerweise erst ab Tiefen von 800 μ m gefunden, dagegen in medialen und lateralen Bereichen schon in 500 μ m Tiefe. Die meisten Zellen wurden bis zu einer Tiefe von 1600 μ m gefunden.



Abbildung 7: A. Darstellung der 80 Elektrodenpenetrationen im SC von 5 Eptesicus fuscus (EF; verschiedene Symbole) von oben betrachtet.

B. Schematische Darstellung der Lokalisierung der 197 richtungsempfindlichen SC-Neurone bei fünf Tieren (EF; versch. Symbole), in Frontalschnitten; Abstand zwischen zwei Schnitten, 500 μ m.



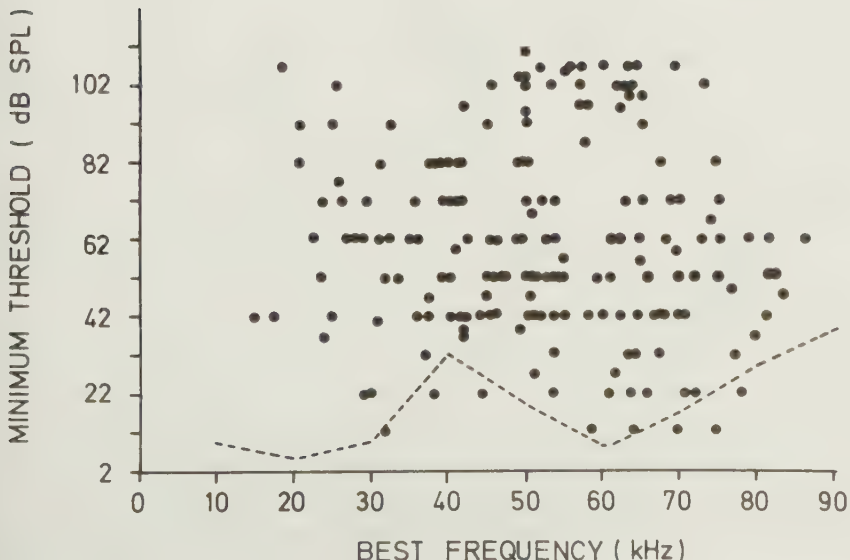
4.2. Hörcharakteristika der Neurone

4.2.1 Minimalschwellen der Gesamtheit aller abgeleiteten Neurone

Die Minimalschwelle ist definiert als die niedrigste Reizintensität, bei der eine mit dem gebotenen Reiz korrelierte Zellaktivität auftritt (PST-Histogramm).

Die Minimalschwellen sind für alle 197 im Colliculus superior registrierten Einzelzellen bestimmt worden. Die Verhaltenshörkurve von Eptesicus fuscus zeigt (Dalland, 1965) einen breiten Frequenzbereich, in dem die Schwellen niedrig sind, d.h. bei dem diese Fledermaus besonders gut hört. Die niedrigsten Schwellen liegen in Frequenzbereichen zwischen 10-30 kHz und 50-70 kHz, was mit den Frequenzen der ersten und dritten Harmonischen des Echoortungslautes dieser Fledermaus übereinstimmt.

Abbildung 8: Verteilung der Schwellen von 197 SC-Neuronen als Funktion ihrer BF. Die gestrichelte Linie gibt die Verhaltenshörkurve dieser Fledermaus (Dalland, 1965) an. Man kann die gute Übereinstimmung der Schwellen der empfindlichsten SC-Neuronen mit dem Verlauf der Verhaltenshörkurve von Eptesicus feststellen.

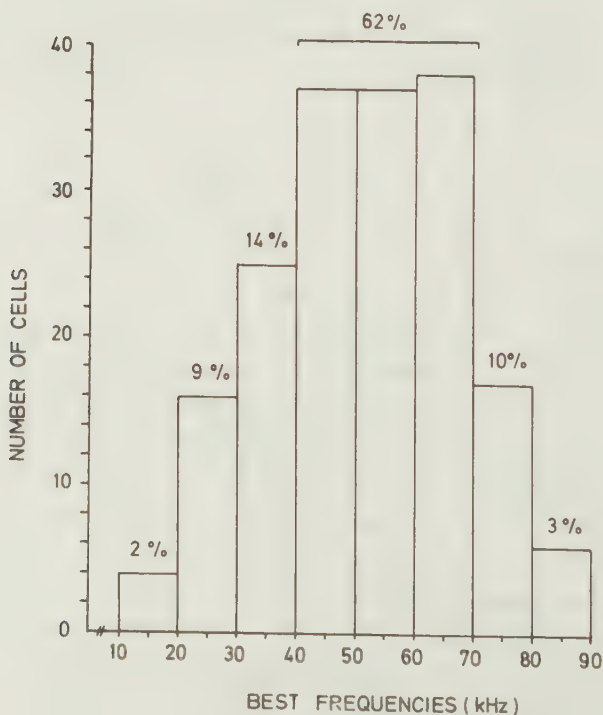


In Abbildung 8 ist die von Dalland (1965) bestimmte Hörkurve, sowie die Minimalschwellen einzelner Neurone als Funktion ihrer besten Frequenzen in derselben Graphik aufgetragen. Obwohl sich die Minimalschwellen der meisten SC-Neurone zwischen 42 und 102 dB SPL (60 dB Streuung) verteilen, stimmen die Schwellen der empfindlichsten SC-Zellen mit dem Hörkurvenverlauf dieser echootenden Fledermaus überein.

4.2.2 Beste Frequenz von SC-Neuronen

Die BFs der abgeleiteten Neurone liegen in einem Bereich von 17 bis 85 kHz. 62% der Zellen (120 Neurone) weisen BF zwischen 40 und 70 kHz (Abb. 9) auf, nämlich in dem Frequenzbereich, in dem auch die zweite und dritte Harmonische des Echoortungslautes der Fledermaus Eptesicus fuscus fällt.

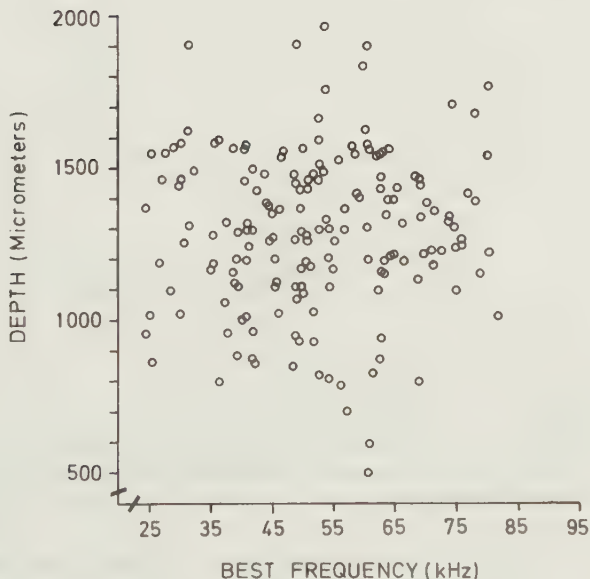
Abbildung 9: Verteilung der BF von 197 SC-Neuronen. Die BF wurden mit einem am besten Azimuthwinkel platzierten unbeweglichen Lautsprecher gewonnen.



4.2.3 Tonotopie

In dorsoventralen Elektrodenpenetrationen durch den SC konnte keine systematische Änderung der BF festgestellt werden (Abb. 10). Ein Vergleich von Penetrationen durch extrem rostrale und caudale bzw. mediale und laterale Gebiete ergab auch keinen Hinweis auf eine medio-laterale oder rostro-caudale tonotopie Organisation (Abb.17D).

Abbildung 10: Verteilung der BF von 197 SC-Neuronen in Abhängigkeit von der Ableittiefe. Eine tonotopie Anordnung der besten Frequenzen konnte bei *Eptesicus* nicht festgestellt werden. Der Nullpunkt bezieht sich auf die Gehirnoberfläche. Die Penetrationstiefe wurde an der Skala des Schrittmotors des hydraulischen Vorschub in μ m abgelesen.



4.2.4 Frequenzabstimmungskurven und $Q_{10\text{dB}}$ -Werte

Komplette Frequenzabstimmungskurven (auch "Tuningkurven" oder "Frequency-threshold"-Kurven genannt) sind für 113 Einzelzellen bestimmt worden. Abbildung 11 stellt einige repräsentative Tuningkurven dar. Sie besitzen meist die klassische Form mit einem empfindlichen, scharf abgestimmten Anteil, steile Flanken im hochfrequenten Gebiet und langausgezogene höherschwellige Anteile im niederfrequenten Gebiet. Manche sind jedoch "spiegel-verkehrt" wie z.B. $\diamond$ -- $\diamond$ oder $\blacktriangledown$ -- $\blacktriangledown$.

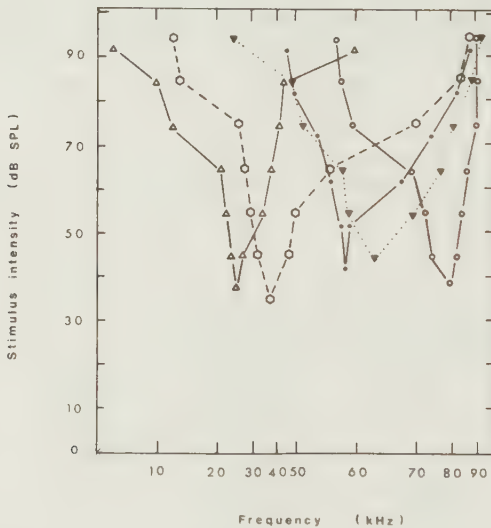


Abbildung 11: Beispiele von Abstimmungskurven einzelner SC-Neurone (verschiedene Symbole). Diese Neurone wurden in 5 Penetrationen im SC gefunden. Alle Kurven sind breit und decken jeweils fast 2/3 des von Eptesicus benützten Frequenzbereichs ab.

Eine übliche Schätzung der Schärfe dieser Abstimmungskurven gibt die Berechnung des $Q_{10\text{dB}}$ -Wertes: Je höher dieser Wert desto schmaler die Tuningkurve. Im Colliculus superior streuen die Werte von 1.75 bis 26, was bedeutet, daß die Abstimmungskurven dieser Einzelzellen relativ breit sind. Andere Laborsäuger

zeigen maximale Q_{10} dB-Werte von 20 (Aitkin et al., 1975) was mit den vorliegenden Werten übereinstimmt. In Abbildung 12 sind die Werte von 70 einzelnen Neuronen als Funktion ihrer BFs aufgetragen. Eine leichte Korrelation zwischen beiden Faktoren könnte man bei einigen Tieren vermuten: Einheiten mit niedrigen BFs haben niedrigere Q_{10} dB-Werte, wohingegen Zellen mit höheren BFs zu höheren Q_{10} dB-Werten tendieren.

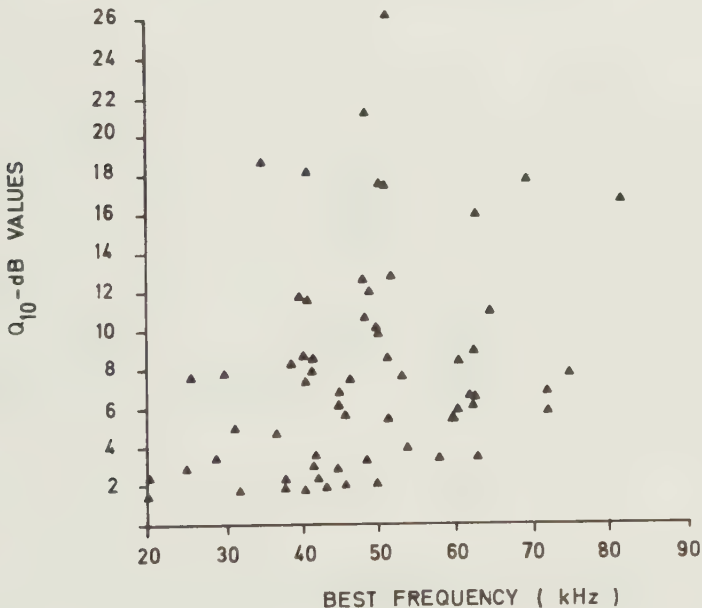


Abbildung 12: Q_{10} dB-Werte (Ordinate) von SC-Einzelzellen von *Eptesicus* in Abhängigkeit von ihren besten Frequenzen (BF, Abszisse).

4.2.5 Aktivitätsmuster

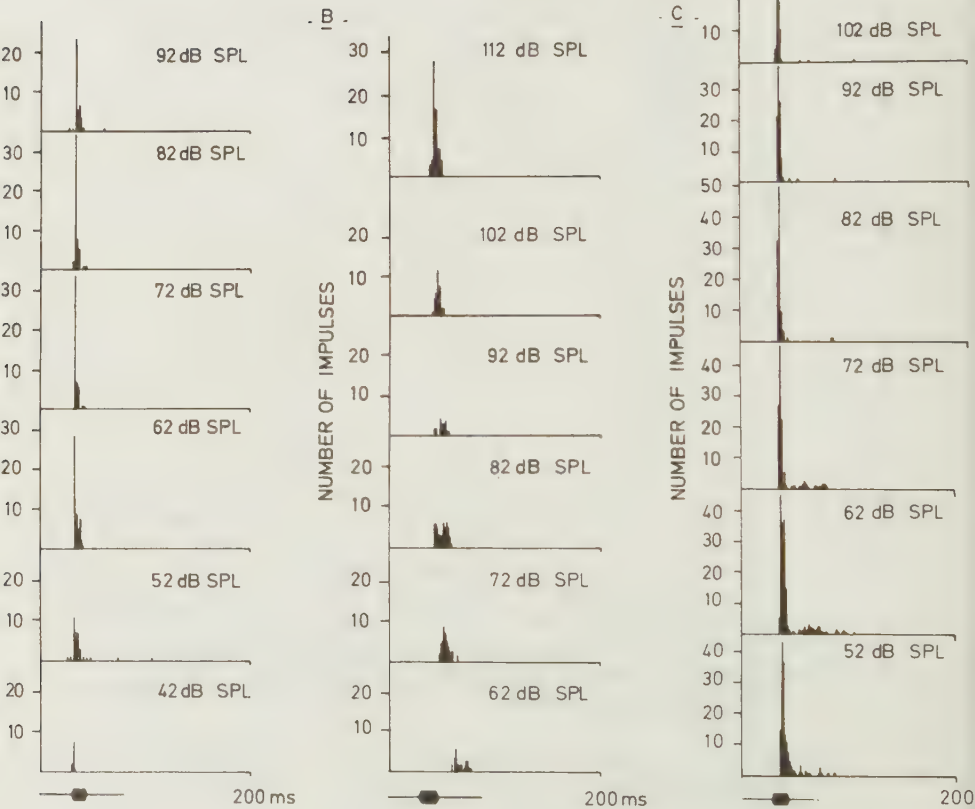
Die Antwortmuster wurden für alle 197 Neurone mit CF-Reizen bestimmt. Für die 80 ersten Zellen sind zusätzlich

Abbildung 13A-C: Reizfolgehistogramme (PST-Histogramme; 1ms Binbreite) für 3 SC-Neurone als Antwort auf 50 CF-Reizpräsentationen bei von unten nach oben ansteigender Intensität. Die Neurone antworten phasisch auf den Anfang des Reizes.

A. Neuron, das bei verschiedenen Intensitäten eine konstante Latenz aufwies (82%, 161 Zellen).

B. SC-Einzelzelle, die kürzere Latenzen bei höheren Reizintensitäten zeigte (8%, 16 Zellen).

C. SC-Neuron mit längeren Nachentladungen besonders bei niedrigen Intensitäten (10%, 20 Zellen).



die Antwortmuster bei FM-Reizen vorhanden. Alle isolierten Zellen gehören zum phasischen Typ mit einer gewissen Variationsbreite, d.h. z.B. unterschiedlich langdauernde Nachentladungen und unterschiedliche Entladungsraten. Die maximal erhaltene Entladungsrate ist 5 Nervenimpulse pro dargebotenen CF- bzw. FM-Reiz. Die Nachentladungszeiten nach dem stark ausgeprägten "On-Gipfel" schwankten zwischen 12 und 50 ms. Alle Einzelzellen haben eine mit dem Beginn des Reizes korrelierte Aktivität (Abb. 13A-C). Die Antwortmuster mit CF- und FM-Reizen sind, wie es in Abbildung 4 gezeigt wurde, identisch.

4.2.6 Latenzen einzelner SC-Neurone

Die Verteilung der Latenzen bei Reizintensitäten von 20 dB über der Schwelle von 180 SC-Zellen ist in Abbildung 14 dargestellt. Die meisten Neurone (49%) hatten Latenzen, die zwischen 8 und 12 ms (± 1 ms) nach Reizbeginn lagen. Insgesamt streuen die Werte von 4 bis 28 ms. Nur wenige Zellen (8%, 16 Neurone) wiesen eine monotone Abnahme ihrer Latenzen mit zunehmender Intensität auf (Abb. 13B): etwa 2 ms pro 10 dB Abschwächung, bei Latenzen von bis zu 20 ms im Hörschwellenbereich. Bei allen übrigen Zellen (92%) schwankten die Latenzen bei unterschiedlichen Intensitäten um maximal 1 ms.

4.2.7 Intensitätskennlinien

Die Änderung der neuronalen Aktivität als Funktion der Reizintensität wird in den Intensitätskennlinien dargestellt. Um diese für die Einzelzellen zu bestimmen, wurde ein 16ms langer CF-Reiz mit einer 4Hz-Repetitionsrate verwendet. Der Reiz wurde mit ansteigenden Intensitäten am BA und bei der BF der abgeleiteten Zellen geboten. Die Antwort (Gesamtzahl der Impulse), die man bei 50 Präsentationen erhielt, erlaubte die Darstellung der Kennlinien dieser Neurone. Komplette Kennlinien wurden für 100 Neurone des SC gemessen (Beispiele in Abb. 15 A-C). Traditionellerweise klassifiziert man Kennlinien in monotone und nichtmonotone. Im Fall von Eptesicus

SC-Neuronen wurde die zweite Gruppe noch in nichtmonotone und extrem nichtmonotone unterteilt (Abb 15B,C). Die Aktivität monotoner Zellen (55% / 55 Neurone; Abbildung 15A) nimmt mit steigender Intensität zu, die Entladungsaktivität nichtmonotoner Zellen (45% / 45 Neurone; Abbildung 15B,C) dagegen erreicht ein Maximum bei bestimmten Intensitäten. Die Antwort sinkt dann mit noch höheren Intensitäten wieder ab. Die Kennlinien dieser Neurone zeigen entweder einen leichten Abfall, der einer Aktivitätsabnahme von etwa 1 bis 2 Nervenimpulsen/dB entspricht (nichtmonotone Zellen, Abb.15B) oder fallen drastisch ab, 2 bis 5 Impulse/dB (extrem nichtmonotone Zellen, Abb.15C).

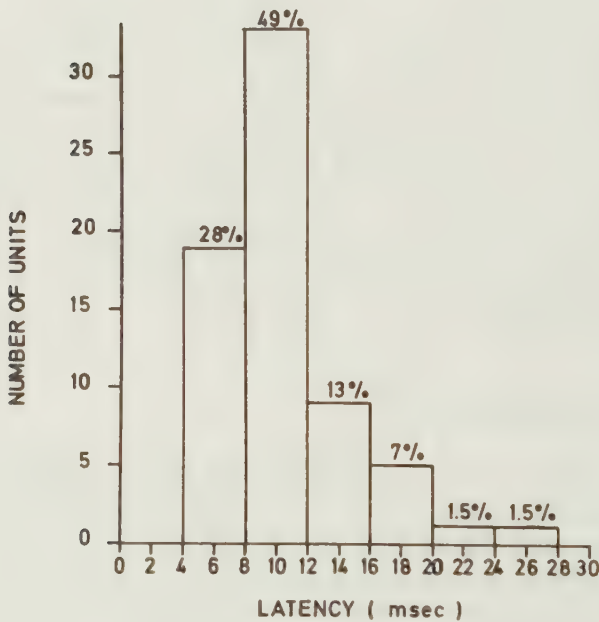


Abbildung 14: Verteilung der Latenzen von 197 SC-Neuronen auf CF-Reize. Der Lautsprecher stand am BA. Die Latenzen wurden bei der BF 20 dB über der Minimalschwelle gemessen.

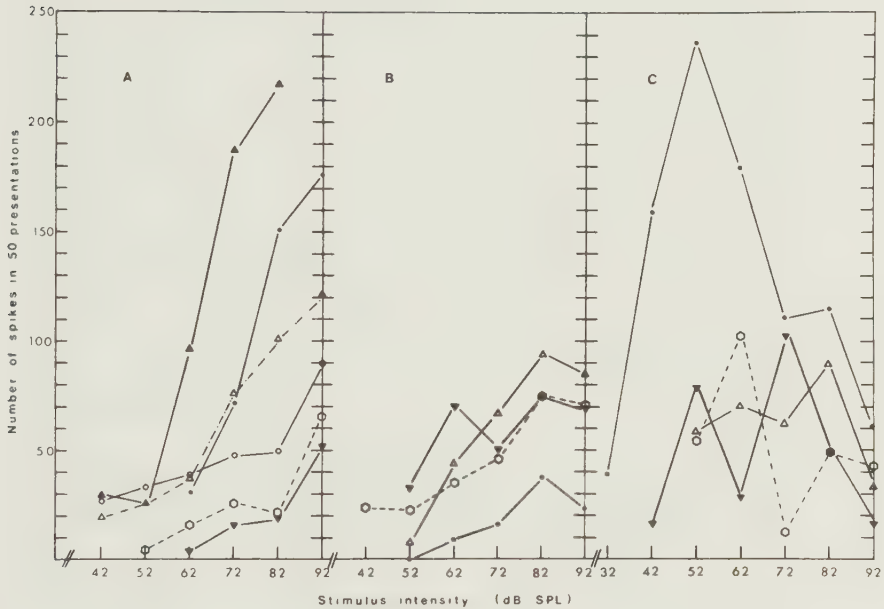


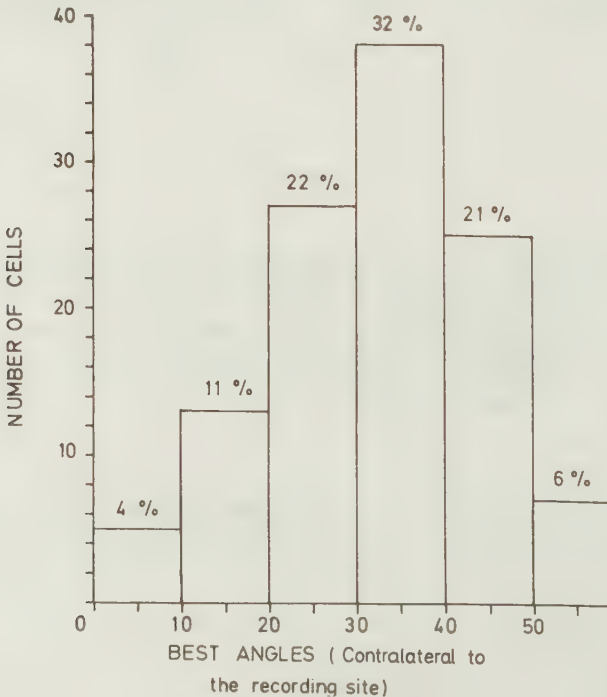
Abbildung 15: A-C Intensitätskennlinien von 14 repräsentativen SC-Neuronen als Antwort auf CF Reize (BF, 16ms lang):
 A. Monotone Antwort (55 Zellen, 55%)
 B. Schwach nichtmonotone Antwort (23 Zellen, 23%; mit Sättigung)
 C. Extrem nichtmonotone Antwort (21 Zellen, 21%; mit "upper thresholds").

4.3 Richtungsempfindlichkeit der SC-Neurone

4.3.1 Verteilung der besten Azimuthwinkel

Die BA-Bestimmung fand am Anfang der Untersuchung bei der BF einer Zelle statt. Durch manuelles Hin- und Herschwenken des Lautsprechers wurde der Azimuthwinkel festgestellt, bei dem die Zelle die höchste Aktivität zeigte. Es wurde eine Intensität 20 dB über der Schwelle gewählt, die ihrerseits bei einem Azimuth von 30° contralateral grob bestimmt worden war. Abbildung 16 stellt die Verteilung dieser BAs dar, die aus den Sweephistogrammen in der horizontalen (0°) Ebene bestimmt wurden. Die meisten BAs lagen zwischen 20 und 50° contralateral zur Ableitseite (75% der Neurone, 140 Zellen); 32% davon (38 Zellen) befinden sich zwischen 30 und 40° , 22% (27 Zellen) zwischen 20 und 30° und 21% (26 Zellen) zwischen 40 und 50° contralateral zur Ableitseite. Nur 4% (8 Zellen) der vom SC abgeleiteten Zellen hatten ipsilaterale BAs, die zwischen 5 und 30° lagen.

Abbildung 16: Verteilung der besten Azimuthwinkel (BAs) gemessen in der horizontalen (0°) Ebene von 197 abgeleiteten Neuronen. Die gezeigten 96% aller Zellen zeigten contralaterale BA.



4.3.2 Topographie

Es konnte im Colliculus superior keine topographische Anordnung der BAs der abgeleiteten Zellen nachgewiesen werden.

Die Lokalisierung der Zellen in Bezug erstens auf die Mittellinie des Schädels und zweitens auf den vorneliegenden Referenzpunkt (Siehe Methoden 3.2.6 a) läßt sich weder mit den BAs noch mit den BF positiv korrelieren (Vergleiche Abbildung 17 A-D). Die Annahme einer Zufallsverteilung scheint angebracht zu sein.

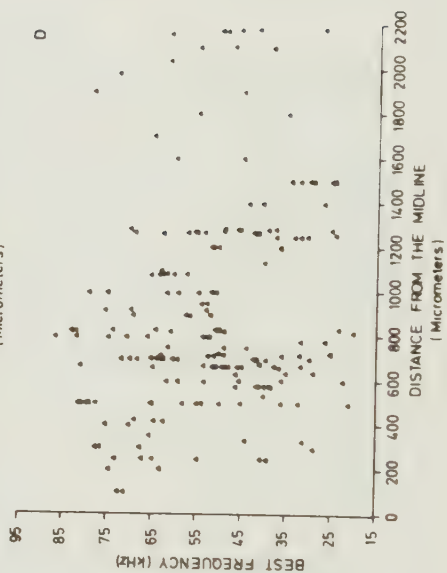
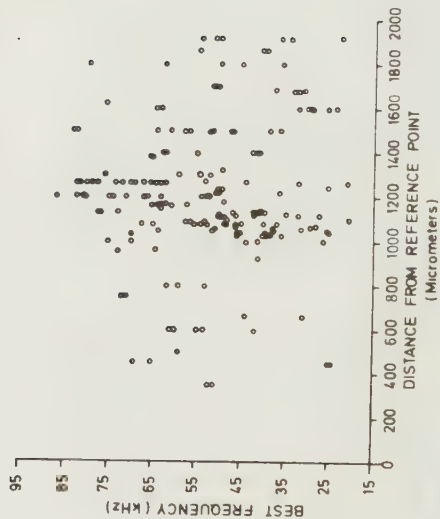
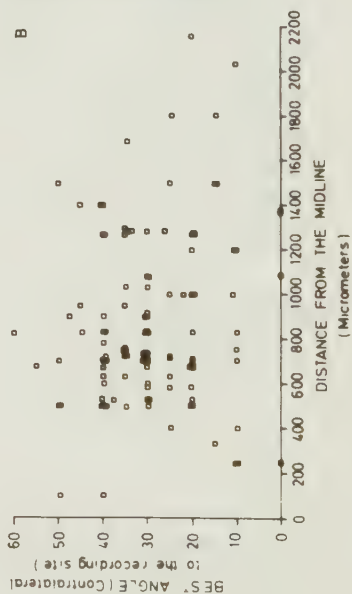
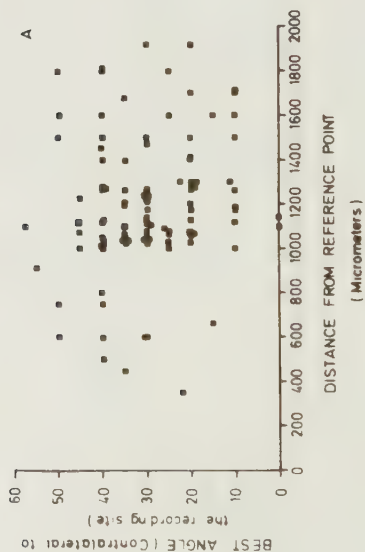
4.3.3 Antwort in Abhängigkeit vom Azimuthwinkel der Schallquelle

Die Richtcharakteristik der Einzelzellen des Colliculus superior wurden mit einem Lautsprecher bei fünf verschiedenen Elevationen getestet.

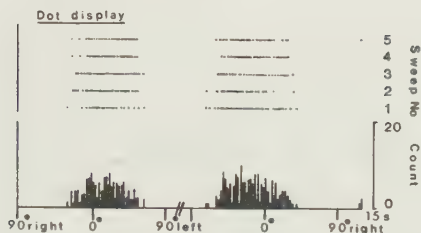
a) Antwort auf CF- und FM-Reize

Antworten auf CF- und FM-Reize wurden bei 80 SC-Zellen (42%) getrennt untersucht. Abbildung 18 stellt die Ergebnisse dieser Untersuchung exemplarisch in Form von zwei Dot-displays (jeder Einzelpunkt bedeutet einen Nervenimpuls) und zwei Sweep-Histogrammen dar. Beide Reize wurden mit einer Intensität von 52dB SPL in der horizontalen Ebene geboten. Die beste Frequenz dieser Zelle (58 kHz) wurde als Mittenfrequenz des FM-Sweeps (BF ± 20 kHz-Hub) bzw. als Frequenz des CF-Reizes benützt.

Da die Antwortkurve bei CF genauso wie bei FM ausfällt, wurde im Weiteren dem CF-Reiz als dem einfachsten Reiz der Vorzug gegeben.



A - Response to FM stimuli



B - Response to CF stimuli

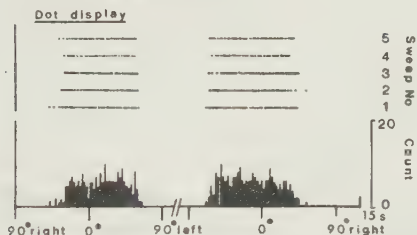


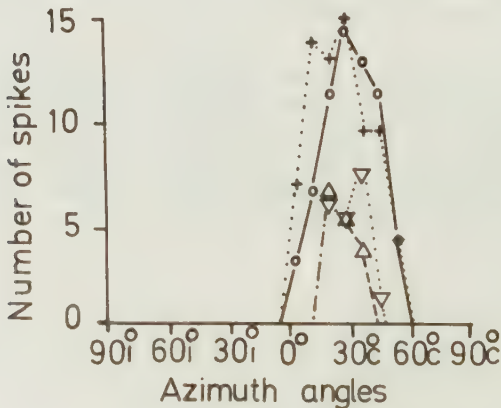
Abbildung 18 (A,B): Antwort eines Neurons, das im rechten SC isoliert wurde, auf FM- (BF +20kHz, A) und CF- (BF, B) Reize. Diese Histogramme (50ms Binbreite) und Dot-displays wurden mit einer bewegten Schallquelle in der 0°-Ebene gewonnen. Die BF dieser Zelle war 58 kHz. FM- und CF-Reize wurden mit einer Intensität von 52dB SPL (20dB über der Minimalschwelle) vorgespielt (Dauer eines Sweepzyklus 15 Sek.). Die "PST-Histogramme" unter den Dot-displays sind die Summe von Sweep No. 1 bis 5. Ein Sweep bezieht sich auf eine volle Hin- und Herbewegung des Lautsprechers. Während einer Bewegung von rechts nach links, bzw. von links nach rechts wurden 28 Reizpulse geboten. Die Reizung stand in keiner festen Zeitrelation zum Sweepbeginn, erfolgte also bei jedem der 5 Sweepdurchgänge bei anderen Azimuthwinkeln.

Abbildung 17 (A-D): Verteilung der besten Azimuthwinkel (best angle) und besten Frequenzen (best frequency) von 130 SC-Zellen, in Abhängigkeit von ihren Lokalisierung (distance) bezüglich der Schädelmittellinie (B,D) in der mediolateralen Richtung bzw. dem vorderrückwärtigen Referenzpunkt (A,C) in der rostrocaudalen Richtung. Es konnte keine topographische Anordnung der SC-Neurone festgestellt werden.

b) Reaktion bei Links- bzw. Rechtsbewegung

Es ergibt sich die gleiche richtungsabhängige Antwort (Sweep Histogramm), unabhängig davon, ob die Schallquelle von ipsi- nach contralateral oder von contra- nach ipsilateral bewegt wurde. Das wird ersichtlich, wenn jeweils ein Histogramm (Bewegung von ipsi- nach contralateral) spiegelverkehrt über das andere (Bewegung von contra- nach ipsilateral) gelegt wird, wie es in Abbildung 19 exemplarisch dargestellt ist. Die Abweichungen der Kurven, die sich bei Links- und Rechtsdrehung ergeben, sind nicht größer als die, die man erhält, wenn zwei Histogramme gleicher Reizrichtung hintereinander aufgenommen, überlagert und verglichen werden.

Abbildung 19: Übereinandergezeichnete, gespiegelte Sweep-Histogrammhüllende, die der Bewegung der Schallquelle von ipsi- nach contralateral (•---•, CF-Reizintensität: 102 dB SPL; Δ---Δ, bei 82 dB SPL) bzw. von contra- nach ipsilateral (+---+, bei 102 dB SPL; ▽---▽, bei 82 dB SPL) zuzuordnen sind. Die Antwortmuster der Zelle in beiden Drehrichtungen überlappen sich. Von contra- nach ipsilateral verschiebt sich die Antwort leicht nach ipsilateral bei der höheren Intensität und in derselben Größenordnung nach contralateral bei niedrigerer Intensität; Diese Diskrepanz könnte an der Binbreite des Histogramms (250 ms) liegen, da bei dieser Auflösung Verschiebungen auftreten können.



4.3.4 Bewegung des Lautsprechers in 5 verschiedenen Ebenen

Um die räumlichen Antwortcharakteristika der isolierten SC-Neurone untersuchen zu können, wurden die horizontalen Charakteristika für fünf verschiedene Elevationen gemessen. Am BA der Zelle wurde auch eine vertikale Bewegung um $\pm 60^\circ$ ($\pm$ beziehen sich auf die horizontale Ebene der Fledermaus) bei der BF durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abbildung 20 dargestellt (CF-Reiz). Bei den verschiedenen untersuchten Elevationswinkeln blieb der BA des Neurons nahezu konstant (bei etwa 30° contralateral zur Ableitseite). Außer für die 0° Ebene zeigte die Zelle Nebengipfel, die vielleicht durch die von der Tierhalterung reflektierten Echos herrühren. Der vertikale beste Winkel, gemessen am horizontalen BA dieser Zelle befand sich wie bei den anderen Zellen bei etwa -20° , was mit der Ohrposition und der Richtcharakteristik der Pinna zu erklären ist.

4.3.5 Zwei Typen von winkelcodierenden Zellen

Die Antwortbreite wurde in der Horizontalebene mittels der beweglichen Schallquelle untersucht. Alle isolierten Zellen antworteten auf Reize aus einem bestimmten Azimuthwinkelbereich von ± 45 bis $\pm 60^\circ$ relativ zum BA. Der contralaterale Bereich wurde dabei stets total abgedeckt. Antworten auf verschiedene Intensitäten wurden untersucht. Zwei verschiedene Antwortprofile (Zelltypen) haben sich herausgestellt:

a) Richtungsstabiler Typ

Die Zellen dieser Gruppe (80%, 158 Zellen) behielten einen konstanten BA mit zunehmenden Reizintensitäten bei und zeigten eine immer höhere Aktivität und breitere Antwort (größerer Azimuthwinkelbereich), wie es in Abbildung 21A dargestellt ist. Da diese Neurone einen konstanten BA beibehielten, wurden sie "richtungsstabil" genannt. Dieser Zelltyp kodierte dieselbe beste Richtung bei allen untersuchten Intensitäten.

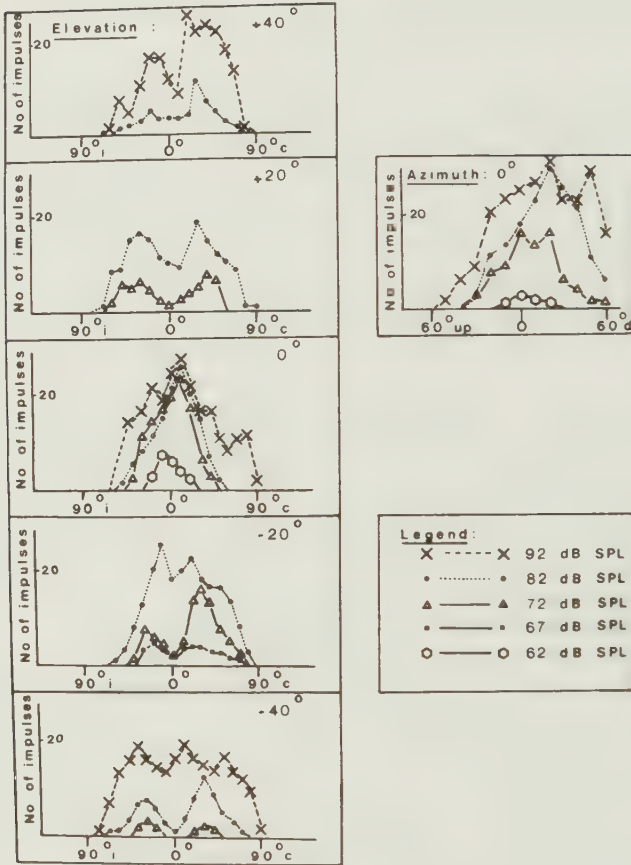


Abbildung 20: Richtungsempfindlichkeitskurven einer Zelle, die im rechten SC isoliert wurde, bei 5 Elevationswinkeln (CF-Reize). Die Elevation ist jeweils in der oberen rechten Ecke angegeben (+ über, - unter dem Horizont). Rechts die Antwort der Zelle auf eine vertikale Bewegung am besten Azimuthwinkel bei der besten Frequenz der Zelle (62 kHz). BA: 25° contralateral zur Ableitseite, BE: -20°.

b) Richtungsinstabiler Typ

Im Gegensatz zu der erste Gruppe behielten die Zellen dieses Typen (20%, 39 Neurone) keinen festen BA bei sich ändernden Intensitäten bei, sondern zeigten bei abnehmenden Intensitäten eine Verschiebung ihres BA auf die Vorausrichtung hin. Die neuronale Aktivität sowie die Antwortbreite blieben bei den verschiedenen Intensitäten identisch. Das Kennzeichen dieser Zellen ist somit eine systematische Verschiebung der BA zum Zentrum des Hörraums zu, wenn die Intensität sinkt (Abb. 21B). Der beste Azimuthwinkel verschiebt sich um etwa 10° /10 dB Abschwächung, höchstens aber bis zu 5 bis 10° contralateral, d.h. er bleibt immer in der contralateralen Hälfte.

4.3.6 Rezeptive Felder einzelner SC-Neurone

Das RF einer Zelle wurde als der Raum definiert, in dem mindestens 25% der Werte bezogen auf das jeweilige Maximum festgestellt werden kann. Die Antworten für die fünf verschiedene Ebenen wurden auf einer Kugel aufgetragen und diese in eine Ebene projiziert (Abb. 22). Die BAs der isolierten Zellen lagen nahezu ausschließlich contralateral (96% der Zellen, 189 Neurone). Die RFs sind breit in ihrem Azimuthwinkelbereich (maximal: $90-120^{\circ}$) und auch im Elevationswinkelbereich ($80-100^{\circ}$). Die Breite dieser RFs blieb bei sich ändernden Intensitäten nahezu identisch.

4.3.7 Antwort auf Lichtreize

Eine 1/2 Watt Glühlampe (2 mm Durchmesser) wurde vor der Mitte des Lautsprechers montiert und mit diesem bewegt. Das Licht wurde entweder kontinuierlich oder mit einer beliebigen Repetitionsrate bei den 60 zuletzt untersuchten Neuronen angeboten, wobei eine akustische Reizung entweder nicht, vorher oder gleichzeitig erfolgte. Bei ausschließlich visueller Reizung (5 Penetrationen) wurde keine Zelle isoliert, die auf Lichtreize reagierte. Bei einer zeitlichen Folge von akustischem (zuerst) und dann visuellem Reiz wurde keine Veränderung des Antwortmusters der abgeleiteten Zellen festgestellt (40 Zellen).

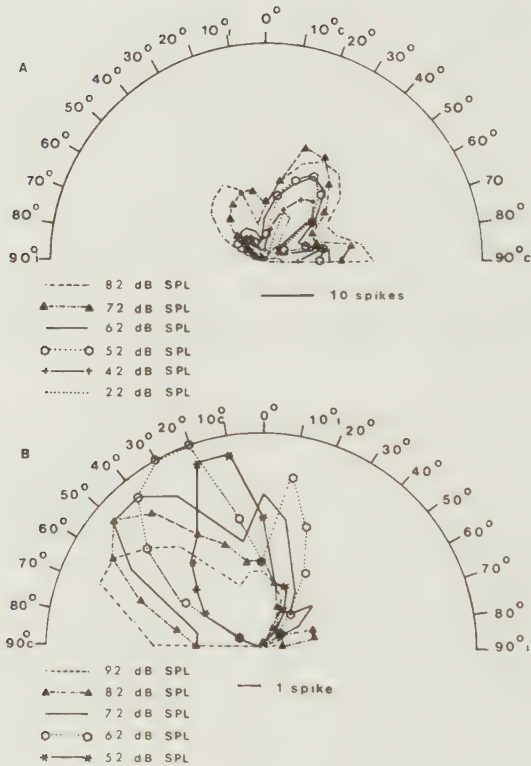


Abbildung 21: Polarkoordinatendarstellung der zwei verschiedenen Zelltypen. Jeder Wert, aufgetragen in radialer Richtung, stellt die registrierte Aktivität der Zelle bei Reizung aus dem angezeigten Winkel in der Horizontalebene dar (CF-Reize). Jeweils 5 Bewegungszyklen der Schallquelle (gleichbleibende Intensität) wurden gemittelt (Sweep Histogramme).

A: Richtungsstabiler Typ (konstante BA);

B: Richtungsinstabiler Typ (BA-Verschiebung. Siehe Text).

Auch beim gleichzeitigen Anbieten von akustischen und visuellen Reizen hatte die anschließende Entfernung des Lichtreizes keinen Einfluß auf die registrierte Aktivität (20 Zellen). Keine der in dieser Weise untersuchten Zellen erwies sich als bimodal.

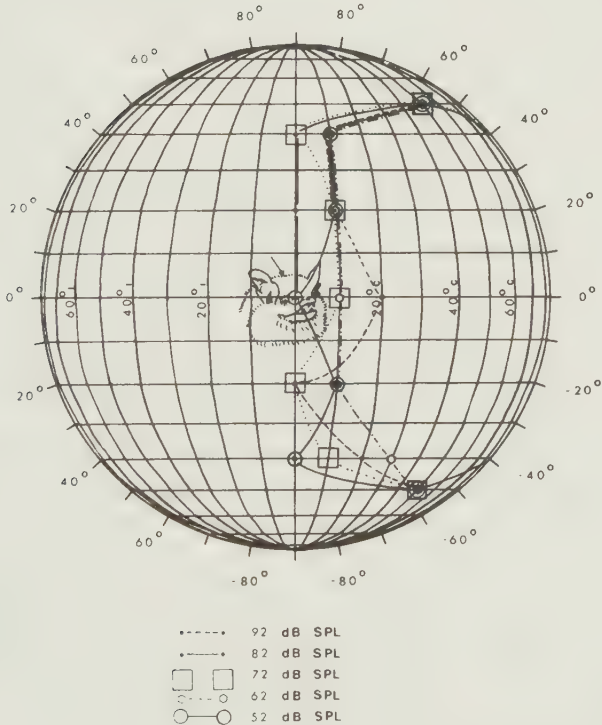


Abbildung 22: Sphärische Darstellung (Azimutalprojektion) eines RF eines Einzelneurons; Die Fledermaus sitzt im Zentrum der Kugel; Wie es durch den Pfeil gezeigt wird, wurde im rechten SC des Tieres abgeleitet. 5 Intensitäten wurden untersucht. Die Zelle antwortete auf contra-laterale Reizung.

5. Diskussion

5.1 Lage der registrierten Zellen

Schallempfindliche Zellen im Colliculus superior konnten in der vorliegenden Arbeit in einer Tiefe von 500 bis 1600µm isoliert werden. Das stimmt nicht mit den Angaben von Jen et al. (1984), die Zellen schon ab 200µm Tiefe aber nur bis 1090µm Tiefe gefunden haben, überein. Ob die Diskrepanz mit unterschiedlichen Ableitwinkeln bzw. mediolateralen oder rostralen Abweichungen in der Orientierung der Tiere zur Penetrationsrichtung zu erklären ist, kann nicht überprüft werden, da die für einen Vergleich notwendigen Angaben (Penetrationsrichtungen, Orientierung der Tiere und Tiefebestimmung) in der Arbeit von Jen et al. (1984) fehlen. Es ist auch durchaus möglich, daß wir aufgrund unterschiedlicher Eigenschaften der benutzten Elektroden zwei sehr unterschiedliche Stichproben herausgegriffen hatten, da diese Charakteristika (Spitzendurchmesser, Widerstand usw.) der Arbeit ebenfalls nicht zu entnehmen sind.

In Übereinstimmung mit Jen et al. (1984) steht das Ergebnis, daß die Höreingänge zum SC relativ zu anderen Säugern, bei denen schallempfindliche Zellen nur im tieferen SC (stratum griseum profundum) gefunden wurden (Wise and Irvine, 1983; bei der Katze), einen größeren Bereich einnehmen, weiter verbreitet sind und auch in höheren Schichten (stratum griseum intermediale) vorkommen. Somit können sie als überrepräsentiert angesehen werden. Das könnte damit erklärt werden, daß die Fledermäuse von ihrem Echoortungssystem besonders stark abhängig sind um überleben zu können.

5.2 Hörcharakteristika

Die reinen Höreigenschaften der SC-Neurone weisen große Ähnlichkeit mit denen von cerebellaren Neuronen derselben Fledermausart auf (Jen und Schlegel, 1980), unterscheiden sich aber von denen der IC-Neurone. Wie es in Tabelle 1 dargestellt ist, sind die Neurone im SC und Cerebellum im allgemeinen nicht

so scharf abgestimmt wie die IC-Neurone (Jen und Schlegel, 1982; Vater et al., 1979), ihre Minimalschwellen sind dagegen mit denen der IC-Neurone fast identisch. Die Latenzzeiten in beiden Strukturen stehen in guter Übereinstimmung und liegen über denen des ICs, die Neurone antworten ausschließlich phasisch auf den Reizbeginn (IC: verschiedene Antwortmuster). Im Gegensatz zum IC derselben Fledermaus (Jen und Schlegel, 1982) zeigt der SC ebenso wie das Cerebellum (Jen und Schlegel, 1980) keine tonotope Anordnung der BF seiner Zellen in einer dorsoventralen Richtung. Auch bei anderen Säugern konnte im SC keine vertikale Tonotopie festgestellt werden. Bezüglich der Intensitätskodierung erscheinen im SC gleichgroße Populationen von monotonen und nicht-monotonen Zellen vorhanden zu sein, im IC ist dagegen der Anteil der nichtmonotonen Zellen größer (Jen und Schlegel, 1982). Die bisher angeführten Ergebnisse stimmen mit den Daten von Jen et al. (1984) am SC von *E. fuscus* gut überein. Die Unterschiede zwischen SC und Cerebellum einerseits und dem IC andererseits dürften in ihrer unterschiedlichen funktionellen Stellung innerhalb der zentralnervösen Verarbeitung von Hörreizen begründet sein. Im IC, der der Haupthörbahn angehört, ist eine präzise Intensitäts- und Frequenzkodierung für eine exakte Signalanalyse entscheidend. Das Cerebellum dagegen spielt eine wichtige Rolle bei der motorischen Steuerung zur Orientierung des Körpers, und der Colliculus superior ist ein Integrationszentrum für Seh-, Tast-, und Hörinformation (Rauschecker und Harris, 1983). Die beiden letzten Kerngebiete brauchen keine weitere Feinfrequenzanalyse durchzuführen (breite Tuningkurven), da diese schon vorher in der Haupthörbahn (vergl. Q_{10dB} Werte Tab.1) ausgeführt wurde. Da vermutlich beide Zentren an der Flugsteuerung beteiligt sind (siehe neuroanatomischer Teil) ist es nur wichtig die Hörinformation zu erhalten um ihr zeitliches und räumliches Muster analysieren zu können. Ohne zur Haupthörbahn zu gehören besitzen beide Kerne daher schallempfindliche Zellen. Neuroanatomische Befunde zeigen eine Verschaltung der beiden Kerne in der Art, daß der SC Eingänge vom Cerebellum erhält (siehe zweiten Teil dieser Arbeit!).

An dieser Stelle sei noch einmal genauer auf die Frequenzselek-

tivität der SC- Neurone eingegangen, die sich mit denen von Jen et al. 1984 decken. Die Q_{10} -dB-Werte der SC-Neurone von Eptesicus fuscus erreichen einen maximalen Wert von 26, was mit Daten vom IC anderer Laborsäuger (Aitkin et al., 1975) oder anderer FM-Fledermäuse (Suga, 1964) übereinstimmt. Eptesicus fuscus besitzt somit im Ultraschallbereich eine ähnliche Frequenzselektivität wie andere Säuger im menschlichen Hörbereich. Aber im Gegensatz zu Laborsäufern wie z.B der Katze (Gordon, 1973), sind die SC-Neurone dieser Fledermaus auf Reintöne und FM-Reize (absteigender Frequenz, 40 kHz-Hub mit der BF als Mittenfrequenz) gleich empfindlich (Abb. 4). Jen et al. (1984) haben dagegen im SC von Eptesicus auch Zellen gefunden, die empfindlicher für FM sind. Das wäre vom biologischen Standpunkt aus zu erwarten, da Eptesicus FM-Laute zur Ortung benutzt. Bei anderen Säugern wie Katze (Gordon, 1973; Wise und Irvine, 1983) oder Meerschweinchen (King und Palmer, 1983) waren die SC-Neurone auf Rauschen empfindlicher. Dies wurde bei Eptesicus nicht gefunden, da weißes Rauschen, das zuerst ebenfalls als Testreiz verwendet wurde, keine niedrigeren sondern meistens deutlich höhere Schwellen als die auf CF-Reize ergab. Der Unterschied scheint verständlich, da die Eptesicus-Neurone eindeutige BFs aufwiesen, während bei der Katze häufig keine deutlichen BFs festzustellen waren (Wise und Irvine, 1983).

Die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und Jen et al. (1984) bezüglich der Antworten der SC- Neurone auf FM-Reize könnte durch die Verwendung einer verschiedenen langen Reizdauer (d.h. Frequenzhub/Zeit) erklärbar sein. Jen et al. (1984) verwendeten eine Reizdauer von 4ms für den FM- und den CF-Reiz, obwohl Jen und Schlegel (1982) zeigten, daß sich eine Reizdauer von über 10 bis etwa 20ms für eine Erregung der unterschiedlichen Zellpopulationen des ICs derselben Fledermaus als am günstigsten erwies. In der vorliegenden Arbeit wurde eine Reizdauer von 2ms für den FM-Reiz, und 16ms für den CF-Reiz benutzt. Es ist daher möglich, daß der FM-Reiz aufgrund der kurzen Dauer (d.h. zu hohen Frequenz/Zeitraite) keine höhere Aktivität als der längere CF-Reiz hervorrief. Dem stehen eigene Versuche entgegen, bei denen probeweise lange

FM-Reize (16ms) und kurze CF-Reize vergleichend benutzt wurden. Die Antworten der Zellen schienen von der Dauer der dargebotenen Reize nicht abhängig zu sein. Trotzdem erscheint es möglich, daß die Zellen besser auf 4ms FM-Reize reagieren als auf 2ms FM-Reize, da der FM-Anteil des Ortungslaufs von Eptesicus fuscus etwa 5ms lang ist (Suchphase).

Tabelle 1:

* Gehirnerne	* Q ₁₀ dB-Werte	* BF (kHz)	* Minimalschwelle	*
*	*	*	(dB SPL)	*
* Sup. Colliculus *	1.75-26	* 25-82 *	0 - 112	*
* Cerebellum (£) *	1.40-16.6	* 22-77 *	12 - 65	*
* Inf.Colliculus(\$) *	1.30-39.5	* 10-90 *	4 - 108	*

£ Ergebnisse von Jen und Schlegel (1980)

\$ Ergebnisse von Jen und Schlegel (1982)

5.3 Richtungsempfindlichkeit

Die Richtungsempfindlichkeit der SC-Zellen wurde mit Hilfe einer beweglichen Schallquelle unter Bedingungen im freien Schallfeld untersucht. Die Bewegungsrichtung des Lautsprechers spielte bei der benutzten geringen Geschwindigkeit keine erkennbare Rolle für die richtungsabhängige Antwort, da die Zellen praktisch die gleichen BAs und RFs zeigen, unabhängig davon, ob sich die Lautsprecherpositionen von ipsi- nach contralateral oder von contra- nach ipsilateral änderten. Da die ersten 80 der insgesamt 197 Zellen gleiche Richtungskurven mit CF und FM Reizen ergaben, wurden im Weiteren zur Zeitersparnis nur noch die einfachen CF-Reize benutzt, sodaß die eventuellen zusätzlichen Amplitudemodulationen bei FM-Reizung wegen einer nicht ganz flachen Lautsprecherkurve (Frequenzgang) überhaupt nicht ins Spiel gebracht werden konnten.

Die meisten besten Azimuthwinkel der registrierten Neurone verteilen sich contralateral zur Ableitseite; d.h. daß diese Neurone vermutlich I/E Neurone sind (Hemmung vom ipsilateralen Ohr und Erregung vom contralateralen Ohr). Die anderen Zellen

sind wahrscheinlich E/I Neurone, da sie nur ipsilateral geantwortet haben. Diese Zellen könnten auch E/O sein, müßten aber sehr breite RFs haben (Erregung vom ipsilateralen Ohr, kein Effekt des contralateralen Ohres). Diese Vermutungen sollten mit Ohrhörern im geschlossenen Schallsystem getestet werden: Dann erst könnte die Binauralität dieser SC-Zellen direkt untersucht werden.

Die Verteilung der BAs im SC in bezug auf rostro-caudale sowie medio-laterale Ableitorte ergab keine topographische Anordnung der Einzelzellen in diesem Kern. Dies steht im Gegensatz zum Meerschweinchen, wo der Hörraum in der Horizontalebene in den Schichten des Kernes rostro-caudal repräsentiert zu sein scheint (Palmer und King, 1982). Das erscheint erstaunlich, da die benutzten Methoden nahezu identisch sind: Bei unseren Versuchen war die Bewegung der Schallquelle so langsam und die Hörreize waren so kurz, daß man die Hörreize als von separaten feststehenden Lautsprechern kommend betrachten kann, die 6.4° voneinander entfernt stehen. Die Lautsprecher von Palmer und King (1982) waren 12.5° voneinander entfernt. Trotz dieser Ähnlichkeit in den Methoden, gibt es keine augenfällige topographische Anordnung der Zellen dieses Mittelhirnkerns bei *Eptesicus*. Dies wurde zunächst auf die vergleichsweise unzureichende stereotaktische Lokalisation der ersten 80 SC-Neurone zurückgeführt (Poussin und Schlegel, 1984). Danach wurde eine noch genauere stereotaktische Apparatur verwendet: Die damit erhaltenen Ergebnisse bestätigen jedoch nur die ersten. Darüberhinaus stimmen die vorliegenden Daten mit denen von Jen et al. (1984) überein, die auch keine topographische Repräsentation des Hörraums im SC dieser Fledermaus feststellen konnten. Um die vorliegenden Daten mit denen von anderen Labors vergleichen zu können, ist für 20 Zellen noch eine andere Reiz-Methode verwendet worden: Eine stufenweise Bewegung des Lautsprechers von rechts nach links und zurück, so daß der Lautsprecher alle 10° stoppte, 1.8 Sekunden lang stehen blieb und nur während des Stillstandes Hörreize aussendete. Die Übergangsbewegung dauerte 200 ms. BA-Verteilung, RFs und Antwortbreite unterschieden sich bei dieser Methode nicht von denen, die mit der kontinuierlichen Bewegung der

Schallquelle an den jeweils gleichen 20 Neurone gemessen worden war.

Für die Bestimmung der Größe des "rezeptiven Feldes" einer schallempfindlichen Zelle sind in neueren Arbeiten unterschiedliche Kriterien verwendet worden: z.B. hat Knudsen (1982) in seiner Untersuchung des Tectum opticum der Eule (SC-Homolog bei Vögeln) die "best area" als den Raum definiert, in dem 50% der maximal Aktivität auftrat; 1978 haben Knudsen und Konishi die "best area-borders" als die Lautsprecherpositionen (Azimuth und Elevation) definiert, bei denen "submaximale" Antworten vorkamen. Die "Hörfelder" wurden in beiden Arbeiten mit den Lautsprecherpositionen, bei denen keine oder nur Spontanktivität erhalten wurde, begrenzt (gleiches Kriterium wie bei Gordon, 1973; bei der Katze). Um einen Kompromiß zwischen diesen verschiedenen Kriterien zu erreichen, wurde in der vorliegenden Arbeit das rezeptive Feld als der Antwortbereich, bei dem mehr als 25% der maximal Aktivität vorhanden war, definiert.

Auch hinsichtlich der Intensitätsbereiche, innerhalb derer die rezeptiven Felder gemessen wurden, findet man unterschiedliche Literaturangaben. Es wurden Intensitäten 10 dB über der Schwelle (MT) bei Knudsen und Konishi (1978), bzw. 10, 20 und 30 dB über MT von Knudsen (1982) verwendet. Jen et al. (1984) arbeiteten in erster Linie mit Intensitäten im Schwellenbereich (max. 20 dB über MT). In der vorliegenden Arbeit wurde der gesamte Intensitätsbereich benutzt (0 bis 112 dB über MT), wobei aber höhere Intensitäten am intensivsten getestet wurden. Jen et al. (1984) finden im Schwellenbereich eine Abhängigkeit der Größe der RFs von der Intensität, wobei bei 10dB über der Schwelle in den meisten Fällen die maximale Größe schon erreicht ist. Dies stimmt mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit und denen von Palmer und King (1981) und Gordon (1973) überein. Erhöhung der Intensität über 10 dB haben kein Effekt auf die Größe der RFs im SC von Eptesicus fuscus (vorliegende Arbeit), und der Eule (Knudsen, 1982). Eptesicus fuscus sendet Ultraschalllaute mit einer Intensität von etwa 100 dB SPL aus. Je nach Ziel und Entfernung liegt die Intensität der zurückkommenden Echos innerhalb sehr weiter Intensitätsbereiche (Lawrence and Simmons, 1982;

sehr schwach bis maximal 85 dB SPL). Die Schwellen der gefundenen Zellen variieren ebenfalls über einen weiten Intensitätsbereich, sodaß aus den vorliegenden Daten nicht entnommen werden kann, ob der biologisch relevante Meßbereich um den Schwellenwert mit den begrenzteren, und damit präziseren, aber intensitätsabhängigen RFs liegt oder bei höheren Intensitäten (intensitätsunabhängige, breite RFs). Für jede Echointensität stehen sowohl Zellen zur Verfügung, die in diesem Bereich ihre Schwelle besitzen wie auch solche, die schon im intensitätsunabhängigen Bereich arbeiten.

Die SC-Neurone haben breite rezeptive Felder in Bezug auf die Azimuth- und Elevationswinkel, so daß sie in ihrer Gesamtheit das ganze contralaterale Halbfeld abdecken. Daraus folgt, daß sich die RFs beträchlich überlappen. Die Ausdehnung der RFs bei dieser Fledermaus stimmt mit denen von der Katze (Gordon, 1973; Wise et al., 1982) überein. Dies ist auch vergleichbar mit Daten von der Maus (Dräger und Hubel, 1975), deren RFs einen Bereich von 70 bis 150° (meistens contralateral) abdecken. Diese Ergebnisse von Säugetieren stehen im Gegensatz zu Daten von der Eule Tyto alba (Knudsen, 1982), bei der relativ kleine elliptische rezeptive Felder (12 bis 42° Azimuthwinkel, 40-120° Elevationswinkel) für einen bestimmten Intensitätsbereich meßbar sind. Diese auffallenden Unterschiede könnten auf folgendes zurückgeführt werden: Das Hörsystem der Eule ermöglicht die Verarbeitung von drei verschiedenen Parametern für Richtungshören: interaurale Zeit-, Intensität- sowie Spektraldifferenzen, die durch die in der vertikalen Richtung unsymmetrischen, aber unbeweglichen Ohren und Federstruktur bedingt sind. Auf diese Weise ergibt jeder Raumpunkt eine bestimmte Kombination der drei Faktoren, die mit Hilfe einer für die Informationsverarbeitung passenden Verschaltung zur Berechnung der RFs führen könnte. Die Eule stellt somit eher einen Spezialfall dar. Säuger könnten zur Lokalisation eines Objekts im dreidimensionalen Raum zusätzlich Richtungsinformationen verwenden, die sie besonders bei Ohrbewegungen aus der Ohrmuschelpositionierung bekommen. Insbesondere bei einigen Fledermausarten wie den Rhinolophiden und Hipposideriden sind die Ohrmuschelbewegungen ausgeprägt und synchron zur Aussendung der Echoortungslaute (Pye

et al., 1962; Pye und Roberts, 1970); sie könnten somit eine bessere Lokalisierung in der vertikalen Achse sowie eine Fokussierung auf die Beute ermöglichen. Jedoch sind bei Eptesicus fuscus (Vespertilionidae) sowie bei anderen FM-echootenden Fledermäusen die Ohrmuschelbewegungen nicht an die Ultraschallautaussendung gekoppelt, selten und eher geringfügig. Wenn diese Fledermaus ihre Umgebung absucht, bewegt sie während fortgesetzter Schallaussendung ihren Kopf hin und her, auf und ab ("horizontal" und "vertical scanning"). Im Hinblick auf die Plastizität der Ohrmuschelbewegungen und auf die verschiedenen bei Säugern existierenden Lautlokalisierungsstrategien scheint es fragwürdig, ob es eine starre Hörraumdarstellung im SC oder sonst irgendwo im ZNS gibt.

Die SC-Zellen von Eptesicus fuscus antworteten auf CF-Reize, die von einer beweglichen Schallquelle aus dargeboten wurden, auf zwei verschiedene Weisen: Die meisten Neurone zeigten intensitätsunabhängige BAs, wohingegen die anderen Zellen eine Verschiebung ihrer BAs nach dem Zentrum des Hörraums bei niedrigen Intensitäten aufwiesen. Die erste Gruppe scheint eine bestimmte Richtung zu kodieren und gibt dem Tier eine konstante Information über die Reizrichtung ohne Rücksicht auf die Schallintensität; d.h. wenn eine Beute unter konstantem Azimutwinkel zu der Fledermaus fliegt, würde die ursprüngliche Richtung dieses Fluges immer die gleichen Zellen, die nämlich diesen BA aufweisen, mit steigender Nervenimpulszahl aktivieren. Es ist auch denkbar, daß diese Neurone an der Kontrolle des Fluges beteiligt sein könnten: Wenn die Beute sich in immer derselben Richtung befindet, würde immer das gleiche Neuron feuern und es würde durch seine Nervenimpulszahl die Entfernung melden (richtungsstabiler Typ); wohingegen die anderen Zellen den Reiz bzw. Beute im ganzen contralateralen Hemifeld verfolgen ("tracking") wenn Echos in ihren Intensitäten abnehmen. Umgekehrt würden sie eine Richtungsänderung von lateral nach medial zeigen, wenn sich die Beute entfernt (richtungsinstabiler Typ).

5.4 Antwort auf somatosensorische und visuelle Reize

Es wäre auch interessant, die eventuell zusätzliche somatosensorische Erregung an SC-Zellen zu untersuchen. Da aber die Ableitungen am wachen Tier erfolgten, war eine Untersuchung mit Berührungsreizen nicht möglich, ohne die Zelle zu verlieren. Man hätte es vielleicht mit stärkerer Narkose versuchen können, doch bei so kleinen Tieren verliert man die Zelle wohl mit Sicherheit auch schon bei leichten Berührungen.

Im Gegensatz zu anderen Säugern hat die Lichtreizung (entweder kontinuierlich oder intermittierend) keine Veränderungen der Aktivität der abgeleiteten Zellen ergeben. Da die Fledermäuse nachtaktiv sind, könnte man annehmen, daß ihr Sehvermögen nicht so gut wie bei anderen Säugern ausgebildet ist und zumindest nicht im SC repräsentiert ist, was die vorliegenden Ergebnisse erklären würde. Es würde aber auch heißen, daß im Gegensatz z.B. zu der Katze (Rauschecker und Harris 1983) der SC keine multimodale Struktur ist, sondern nur eine Nebenstufe des Hörsystems wäre. Das läßt sich wiederum nicht mit den neuroanatomischen Befunden vereinbaren, die im zweiten Teil dieser Arbeit beschrieben sind: Der Colliculus superior bekommt Eingänge von motorischen Nuclei wie auch vom Hör- und Sehcortex. Das heißt, daß die zur Reizung der SC-Neurone verwendeten Sehreize zur eventuellen Erregung der Zellen nicht geeignet waren, oder daß sie nur andere Zellen erregt hatten. Da die Neuroanatomie starke Verbindungen des SC mit motorischen Kerngebieten ergeben hat, kann man die wichtige Rolle dieses Kernes bei der Steuerung des Fluges d.h. im Flugverhalten als gesichert annehmen.

6. Literaturverzeichnis

Aitkin LM, Webster WR, Veale JL, Crosby DC (1975) Inferior colliculus. I. comparison of response properties of neurons in central, pericentral and external nuclei of adult cats. J Neurophysiol 38: 1196-1206

Buchler ER, Childs SB (1981) Orientation to distant sounds by foraging big brown bats (Eptesicus fuscus). Anim Behav 29: 428-432

Dalland JI (1965) Hearing sensitivity in bats. Science 150: 1185-1186

Dräger UC, Hubel DH (1975) Responses to visual stimulation and relationship between visual, auditory and somatosensory stimuli inputs in mouse superior colliculus. J Neurophysiol 38: 690-713

Gordon B (1973) Receptive fields in deep layers of the cat's superior colliculus. J Neurophysiol 36: 157-178

Griffin DR (1958) Listening in the dark. Yale university Press, New Haven, Connecticut

Harris LR (1980) The superior colliculus and movements of the head and eyes in cats. J Physiol 300: 367-391

Horn G, Hill RM (1966) Responsiveness to sensory stimulation of units in the superior colliculus and subjacent tectotegmental regions of the rabbit. Exper Neurol 196: 502-507

Jen PH-S, Schlegel PA (1980) Neurons in the cerebellum of echolocating bats respond to acoustic signals. Brain Res 196: 502-507

- Jen PH-S, Schlegel PA (1982) Auditory physiological properties of neurons in the inferior colliculus of the big brown bat, Eptesicus fuscus. J Comp Physiol 147: 351-363
- Jen PH-S, Sun X, Kamada T, Zhang S, Shimozawa T (1984) Auditory response properties and spatial response areas of superior collicular neurons of the FM bat, Eptesicus fuscus. J Comp Physiol 154: 407-413
- Kellogg WN (1962) Sonar system of the blind. Science 137: 399-404
- King AJ, Palmer AR (1983) Cells responsive to free-field auditory stimuli in Guinea-pig superior colliculus: distribution and responsive properties. J Physiol 342: 361-381
- Knudsen EI (1982) Auditory and visual maps of space in the optic tectum of the owl. J Neurosci 2(9): 1177-1194
- Knudsen EI und Konishi M (1978) A neural map of auditory space in the owl. Science 200: 795-797
- Lawrence BD, Simmons JA (1982) Measurements of atmospheric attenuation at ultrasonic frequencies and the significance of echolocation by bats. J Acous Soc Amer 71: 585-590
- Palmer AR, King AJ (1982) The representation of auditory space in the mammalian superior colliculus. Nature 299: 248-249
- Poussin C, Schlegel P (1984) Directional sensitivity of auditory neurons in the superior colliculus of the bat Eptesicus fuscus, using free-field sound stimulation. J Comp Physiol 154: 253-261
- Poussin C, Simmons JA (1982) Low frequency hearing in the echolocating bat Eptesicus fuscus. J Acous Soc Amer 72: 340-342
- Pye JD, Roberts LH (1970) Ear movements in a Hipposiderid bat. Nature 225: 285-286

- Pye JD, Flinn H, Pye A (1962) Correlated orientation sounds and ear movements of horseshoe bats. *Nature* 196: 1185-1188
- Rauscheker JP, Harris LR (1983) Auditory compensation of the effects of visual deprivation in the cat's superior colliculus. *Exper Brain Res* 50: 69-83
- Rees EL (1973) A combined method for staining myelin, Nissl granules and boutons terminaux. *Med Lab Technol* 30: 33-37
- Ryan MJ, Tuttle MD, Barclay MR (1983) Behavioral response of the frog-eating bat, Trachops cirrhosus, to sonic frequencies. *J Comp Physiol* 150: 413-418
- Schmidt SE (1983) Verhaltens Audiogramm von Megaderma lyra Microchiroptera, Megadermatidae) im niederfrequenten (1-22 kHz). Diplomarbeit in der Fakultät für Biologie der Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Suga N (1964) Single unit activity in cochlear nucleus and inferior colliculus of echolocating bats. *J Physiol* 172: 449-474
- Suga N, Schlegel P (1972) Neural attenuation of responses to emitted sound in echolocating bats. *Science* 177: 82-84
- Tuttle MD, Ryan MJ (1981) Bat predation and evolution of frog vocalizations in the neotropics. *Science* 177: 82-84
- Vater M, Schlegel P, Zöllner H (1979) Comparative auditory neurophysiology of the inferior colliculus of two molossid bats, Molossus ater and Molossus molossus. I-Gross evoked potentials and single unit responses to pure tones. *J Comp Physiol* 131: 137-145
- Wise LZ, Irvine DRF (1983) Auditory response properties of neurons in deep layers of cat superior colliculus. *J Neurophysiol* 49: 674-685

Wise LZ, Irvine DRF, Pettigrew JD, Calford MB (1982) Auditory spatial receptive field properties of neurones in intermediate and deep layers of cat superior colliculus. Neurosci Lett Suppl 8: S88

Teil II: Neuroanatomische Untersuchungen der Projektionen des
Colliculus superior bei der Fledermaus Eptesicus fuscus.

1. Zusammenfassung

1.1 Die Afferenzen und Efferenzen des Colliculus superior (SC)
von acht echoortenden Fledermäusen Eptesicus fuscus (Micro-
chiroptera, Vespertilionidae) wurden durch Injektion von
Meerrettichperoxidase (HRP) und Fluoreszenztracern neuro-
anatomisch untersucht.

1.2 Markierte Zellen wurden mit beiden Methoden in folgenden
Kernen und Kerngebieten nachgewiesen:

- Ipsilateral: motorischer, somatosensorischer, audito-
rischer und visueller Cortex
Zentrales Höhlengrau
Hypothalamus (Nc. ventromedialis hypothalami)
Formatio reticularis (im Bereich des Nc.
ambiguus und Nc. nervi facialis)
Zona incerta
- Contralateral: Colliculus superior
Nc. sensorius principalis n. trigemini
Nc. cuneatus
Nc. gracilis
Nc. tractus solitarius
Nc. lateralis cerebelli
Hinterhorn des Cervicalmarks
- Bilateral: Nc. medialis cerebelli
Substantia nigra
Colliculus inferior

- 1.3 Einen massiven Eingang aus dem Hörsystem erhält der SC nur vom Hörccortex. Im Colliculus inferior (IC) wurden dagegen nur wenige markierte Neurone gefunden.
Alle anderen Eingänge der tiefen Schichten des SC sind dem somatosensorischen oder motorischen System zuzuordnen.
- 1.4 Bei den HRP-Experimenten und in Faser-gefärbten Schnitten sind stets drei massive Faserbündel zu erkennen, die im SC entspringen bzw. in ihm enden:
Das erste Bündel läuft dorsal um das zentrale Höhlengrau (PAG) und verbindet, als die Kommissur des Colliculus superior, die Colliculi der beiden Seiten miteinander.
Das zweite Faserbündel verläuft am lateralen Rand des PAG nach ventral, kreuzt die Mittellinie des Gehirns in der dorsalen tegmental Decussation und zieht in der lateralen Formatio reticularis als Tractus tectospinalis und Tractus tectobulbaris zum Rückenmark.
Das dritte und gleichzeitig massivste Faserbündel verläuft lateral im Lemniscus medialis ungekreuzt nach ventral, schließt sich im Bereich der Pons den Fasern des Tractus corticospinalis an, und kreuzt gemeinsam mit diesem zwischen oberer Olive und dem motorischen Facialiskern. Im Vergleich mit anderen Säugern handelt es sich um den Tractus spinotectalis und um Fasern, die im Lemniscus medialis aus den Hinterstrangkernen aufsteigen.
- 1.5 Doppelt-markierte Zellen wurden in den Fluoreszenztracexperimenten nur in der Substantia nigra nachgewiesen.

2. Einleitung

Die in Teil I dieser Arbeit beschriebenen elektrophysiologischen Untersuchungen am Colliculus superior (SC) zeigen, daß dieser Mittelhirnkern bei der Fledermaus Eptesicus fuscus akustische Eingänge erhält. Die SC-Neurone zeigten eine hohe Empfindlichkeit auf unterschiedliche Positionen einer Schallquelle und sind also in der Lage, Winkel zu codieren. In diesen Reaktionen ähneln sie dem Verhalten von cerebellaren Neuronen auf akustische Reize (Jen und Schlegel, 1980).

Eine Fledermaus setzt die durch die Verarbeitung von Echos gewonnene Information auch dafür ein, die Flugrichtung eventuell zu verändern, um Hindernissen auszuweichen oder, um detektierte Beute zu fangen. Das Gehirn der Fledermaus muß also in der Lage sein, akustische Information in motorische Befehle umzuwandeln. Es ist jedoch anzunehmen, daß ein Tier zur Durchführung koordinierter Flugbewegungen neben akustischen auch somatosensorische Informationen benötigt.

Bei anderen Säugern wird in neuerer Zeit neben anderen Hirnzentren auch dem Colliculus superior eine wichtige Rolle in der Integration sensorischer Eingänge zugeschrieben, nachdem dieser Kern noch bis in die späten sechziger Jahre ausschließlich als Sehzentrum angesehen wurde. Neuere elektrophysiologische und verhaltensphysiologische Untersuchungen zeigten jedoch, daß der SC ein Integrationszentrum für Seh-, Tast- und Hörinformationen ist und, daß er eine Rolle in motorischen Reaktionen auf solche Reize spielt (Chalupa und Rhoades, 1977; Dräger und Hubel, 1975; Gordon, 1973; Henkel, 1981; Horn und Hill, 1966; Rauschecker und Harris, 1983). Durch SC-Ablationsversuche bei Affen (Robinson und Jarvis, 1973) wurde die Rolle des SC in der Kopf- und Augenbewegungskontrolle bewiesen. Auch bei der Fledermaus Eptesicus fuscus führen Verletzungen des rostralen SC und des zentralen Höhlengraus zur Verschlechterung der Echoortungsleistung (Wenstrup und Suthers, 1981): Fledermäuse, die vorher trainiert wurden, Hindernisse zu vermeiden, stießen nach den SC-Lesionen öfter gegen die Hindernisse. Diese Ergebnisse weisen noch

stärker darauf hin, daß der SC, mindestens bei echoortenden Tieren, eine entscheidende Rolle im Verhalten spielt.

Bei nicht echoortenden Tieren wurden die Afferenzen und Efferenzen des Colliculus superior intensiv untersucht: (bei der Katze: Edwards und Henkel, 1978; Edwards et al., 1979; beim Hasen: Holländer und Schönlitzer, 1983; bei Tupaia: Casseday et al., 1979; bei der Eule: Knudsen und Knudsen, 1983). In diesen Untersuchungen zeigte es sich, daß der SC Höreingänge aus dem Colliculus inferior, dem dorsomedialen periolivären Kern, den Kernen des Trapezkörpers und dem ventralen Kern des lateralen Lemniscus erhält. Auch über Projektionen des Hörccortex zum SC wurde berichtet (Casseday et al., 1979; Paula-Barbosa und Sousa-Pinto, 1973).

Bei der Katze erhält der SC somatosensorische Eingänge von dem Cuneatuskern und dem Graciliskern, von den sensorischen Trigeminskernen sowie vom Hinterhorn des Rückenmarks. Projektionen der lateralen und medialen Kerne des Cerebellum zum SC wurden auch nachgewiesen (Edwards et al., 1979).

Da bisher Untersuchungen über die Projektionen des SC bei Fledermäusen fehlen, sollte in einer neuroanatomischen Untersuchung geklärt werden, aus welchen Hirnzentren der SC seine Höreingänge erhält und, ob auch somatosensorische Zentren zum SC projizieren.

3. Material und Methoden

Afferenzen und Efferenzen des Colliculus superior sind mit zwei verschiedenen Methoden untersucht worden; bei fünf Eptesicus fuscus mit dem Nachweis injizierter Meerrettichperoxidase nach den Verfahren von Adams (1977) und Mesulam (1978) und bei drei Tieren durch Injektion von Fluoreszenztracern: Bisbenzimid (BB), Fast Blue (FB), Nuclear Yellow (NY) und Propidium Iodide (PI). Zur Auswertung der Zellstruktur des SC wurde eine nach Rees und eine nach Nissl gefärbte Frontalschnittserie verwendet.

3.1 Meerrettichperoxidasemethode

3.1.1 Operation

Am Tag der Injektion wurde das Tier wie in 3.2.1, 3.2.2 und 3.2.3 (Teil I) beschrieben präpariert.

3.1.2 Injektion des Tracers

Meerrettichperoxidase (HRP, Sigma Typ VI) wurde entweder als Feststoff oder iontophoretisch appliziert.

a) Festinjektion

Bei einem Tier wurde die Markiersubstanz HRP kristallin appliziert. Bei 25-facher Vergrößerung unter einem Mikroskop wurde die Spitze einer Mikroelektrode (5 um Durchmesser) kurz in destilliertes Wasser getaucht und ein paar HRP-Kristalle mit der Spitze der Elektrode aufgenommen. Nach Antrocknen der Kristalle wurde die Elektrode mit hoher Geschwindigkeit in den SC eingeführt. Um die angetrocknete HRP vollständig von der Elektrodenspitze zu lösen, wurde diese in der gewünschten Tiefe (900um) für 20 Minuten belassen.

b) Iontophoretische Injektion

10%-ige Meerrettichperoxidase gelöst in 0,2M Acetatpuffer wurde mit der Backfilling-Methode in eine Mikroelektrode mit einem Spitzeninnendurchmesser von 4 μ m gefüllt. Mit dieser Mikroelektrode wurde das normale Ableitverfahren (Siehe Methoden 3.2.2, Teil I) bis zur Entdeckung einer Zellaktivität durchgeführt. Die elektrophysiologischen Charakteristika der Zelle wurden bestimmt. Danach wurde mit einem Strominjektor ein positiver Strom durch die Elektrode appliziert (1 μ A, 5 Minuten). Diese Injektionsparameter ergaben einen Injektionsort von etwa 200 μ m Durchmesser (gemessen an, mit Diaminobenzidin (DAB) reagierten, Hirnschnitten).

3.1.3 Überlebenszeit

Bei allen Tieren wurde eine 24-stündige Überlebenszeit eingehalten. Danach wurden sie durch intraperitoneale Injektion von Nembutal (5mg Nembutal pro 100g Körpergewicht) übernarkotisiert.

3.1.4 Perfusion

Das narkotisierte Tier wurde auf dem Perfusionstisch an den Flügeln und Hinterbeinen befestigt. Der Brustkorb wurde geöffnet und das Herz freigelegt.

Eine Injektionskanüle wurde in den linken Herzventrikel eingestochen und der rechte Vorhof eingeschnitten, um den Austritt des Blutes zu ermöglichen. Perfundiert wurde mit Hilfe einer Schlauchpumpe, die eine konstante Perfusionsrate von 4 ml/min erlaubte.

Das Tier wurde 5 Minuten lang (20 ml) mit einer Spüllösung, danach 30 Minuten lang mit einer Fixierlösung (120 ml) und anschließend für 20 Minuten (80ml) mit einer Waschlösung perfundiert.

Perfusionslösungen:

Spüllösung : 0,9% Kochsalzlösung
0,1 ml Liquemin
eingestellt auf pH 7,4

Fixierlösung : 1%-ige Paraformaldehydlösung
1,25 % Glutaraldehyd
2,50 % Saccharose
in 0,05M Phosphatpuffer (pH 7,4)

Waschlösung : 0,05M Phosphatpuffer (pH 7,4)
10% Saccharose

Das Gehirn wurde danach aus dem Schädel präpariert und in einer 20%-igen Zuckerlösung in 0,05M Phosphatpuffer über Nacht aufbewahrt (zur Kryoprotektion).

3.1.5 HRP-Reaktion

Das Gehirn wurde am nächsten Tag in Eidotter eingebettet, eingefroren und im Kryostat bei -14° Celsius $48\mu\text{m}$ dick in der Frontalebene geschnitten (Siehe 3.2.7, Teil I). Die Schnitte wurden in zwei Serien in eisgekühltem 0,1M Phosphatpuffer aufbewahrt und am selben Tag entweder nach dem Mesulam- oder dem Adams-Verfahren reagiert.

a) Tetramethylbenzidin (TMB)-Reaktion (Mesulam, 1978)

Alle Reaktionsschritte wurden in der Kälte (4° Celsius) durchgeführt.

Die in 0,1M Phosphatpuffer aufbewahrten Schnitte wurden dreimal in destilliertem Wasser und in Azetatpufferlösung gewaschen. Nach dem Waschen wurden sie in ein Präinkubationsmedium eingebracht und dort 5 Minuten lang präinkubiert. Danach wurden 2 ml 0,3%-iges H_2O_2 zum Präinkubationsmedium zugegeben und die Schnitte für weitere 15 Minuten inkubiert.

Nach kurzem Waschen in Acetatpufferlösung wurden die Schnitte in ein frischangesetztes Inkubationsmedium transferiert

und dort für 15 bis 20 Minuten belassen.

Die Inkubation wurde sofort unterbrochen und die Schnitte in Acetatpufferlösung gewaschen, sobald sich in der Lösung Kristalle bildeten (blau-grüne Färbung des Inkubationsmediums). Nach dreimaligem Waschen in Acetatpufferlösung wurden die Schnitte auf beschichtete Objektträger (Gelatine/Chromalaun) aufgezogen.

Die Schnitte wurden entweder nach Gegenfärbung mit Neutralrot oder ungefärbt entwässert und eingedeckt. Durch die Gegenfärbung wird ein Teil des TMB-Reaktionsproduktes gelöst.

Die Schnitte wurden an einem Polyvar-Mikroskop (Reichert-Jung) im Durchlicht und polarisierten Licht untersucht und mit Hilfe eines Zeichenapparates ausgewertet.

b) Diaminobenzidin-Methode (Adams, 1977)

Die in 0,1M Phosphatpuffer aufbewahrten Schnitte wurden dreimal in Tris/HCl Puffer gewaschen und 10 Minuten lang in einer Lösung aus Tris/HCl Puffer und CoCl_2 (um die Reaktionsempfindlichkeit zu erhöhen) gebeizt, dann zweimal in Tris/HCl Puffer und danach in 0,1M Phosphatpuffer gewaschen. Die Schnitte wurden 5 Minuten lang in einem Präinkubationsmedium reagiert. Zu diesem Medium wurden 0,8ml 1,5%-iges H_2O_2 zugegeben und die Schnitte 20 Minuten lang in diesem Medium inkubiert; danach wurden sie in 0,1M Phosphatpuffer ausgewaschen und aus 0,05M Phosphatpuffer auf beschichtete Objektträger aufgezogen.

Die reagierten Schnitte wurden mit Neutralrot gegengefärbt und mittels eines Polyvar-Mikroskops und seiner Zeicheneinrichtung im Durchlicht ausgewertet.

Lösungen:

TMB-Reaktion

Acetatpuffer (0,2M, pH 3,3) : 40 ml 1M Natriumacetat
(3,28g Na Acetat auf 40ml Aqua dest)
38 ml 1M HCl
122 ml destilliertes Wasser

Acetatpufferlösung (pH 3,3) : 150 ml Acetatpuffer (0,2M, pH 3,3)
2850 ml destilliertes Wasser

Präinkubationsmedium : 74 ml destilliertes Wasser
80 mg Nitroprussid-Natrium (Merck)
4 ml Acetatpuffer
4 mg TMB (Sigma)
mit 2ml Äthanol in der Wärme gelöst

Inkubationsmedium : Präinkubationsmedium
+ 2 ml 0,3%-iges H_2O_2

DAB-Reaktion

Phosphatpuffer (0,1M, pH 7,4) : 100 ml KH_2PO_4 , 0,2M
400 ml $Na_2HPO_4 \times 2 H_2O$, 0,2M
500 ml destilliertes Wasser

Tris/HCl-Puffer : 275 ml 0,1M HCl
(0,05M, pH 7,6) 6,1 g Tris (Merck)
625 ml destilliertes Wasser

Beizlösung : 80 ml Tris/HCl-Puffer
400 mg $CoCl_2$ (Merck)

Präinkubationsmedium : 40 mg DAB (Sigma)
80 ml 0,1M Phosphatpuffer

Inkubationsmedium : Präinkubationsmedium
+ 0,8 ml 1,5%-iges H_2O_2

3.2 Fluoreszenztracer-Methode

Zusätzlich zur HRP-Methode wurde die Fluoreszenztracer-methode aus folgenden Gründen eingesetzt: Durch die Injektion

von zwei verschiedenen Tracern in beide Colliculi konnte die Zahl der auswertbaren Experimente verdoppelt werden. Zum anderen hatte sich bei HRP-Experimenten gezeigt, daß manche Kerne bilateral zum SC projizieren. Durch den Einsatz von Fluoreszenztracern sollte nun gezeigt werden, ob in diesen Kernen Neurone vorhanden sind, die über Kollateralen zu beiden Colliculi projizieren.

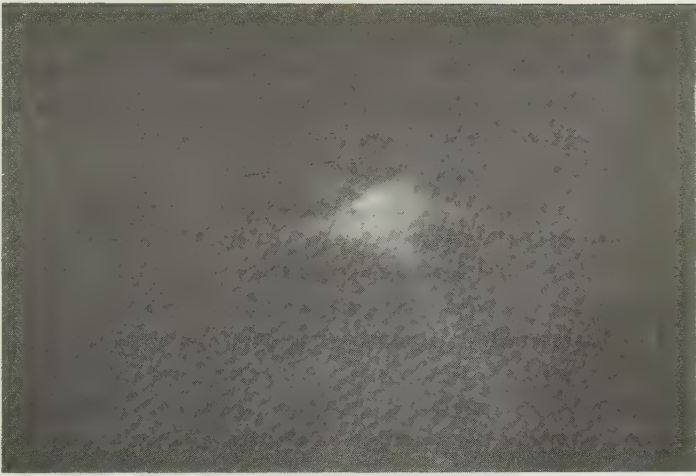
Als Tracersubstanzen wurden verwendet:

Bisbenzimid (BB, Sigma, 1%-ige Lösung), Fast Blue (FB, Dr. Illing GmbH & Co.KG, 2%-ige Suspension), Nuclear Yellow (NY, Hoechst AG, 1%-ige Lösung) und Propidium Iodide (PI, Sigma, 3%-ige Suspension). Alle Tracer werden durch die Synapsen am Injektionsort aufgenommen und retrograd zum Zellsoma transportiert. BB und NY markieren Zellkerne. Bei Anregung mit UV-Licht (Erregerfilter 360 nm) fluoreszieren sie bläulich (BB) oder gelb (NY) (Abb. 23A-B). PI und FB ergeben Cytoplasmamarkierungen, die bei Anregung mit UV-Licht (360 nm) jeweils orange (PI) oder blau (FB) fluoreszieren. Um doppelmarkierte Neurone nachweisen zu können, wurden jeweils ein Kern- und ein Cytoplasmamarker in Kombination verwendet: BB mit PI und NY mit FB (Abb.23C). Nach symmetrischer Injektion der zwei unterschiedlichen Tracer in jeweils einen SC könnten somit nur die Neurone beide Tracer aufnehmen, die über Kollaterale in beide SC projizieren.



A.

—————50µm



B.

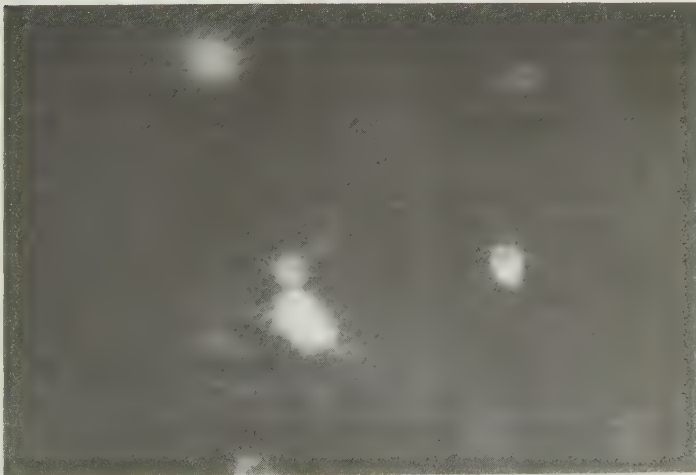
————— 50 μ m

Abbildung 23: Beispiele markierter Neurone in der Substantia nigra nach Druckinjektion von Fast Blue in den rechten und Nuclear Yellow in den linken SC einer Fledermaus (EF18).

A. NY-markierte Zelle, deren Kern, der mit Tracer gefüllt ist, gelb leuchtet.

B. FB-markiertes Neuron, dessen Cytoplasma und Dendriten mit FB gefüllt sind und blau fluoreszieren.

C. Doppelt-markierte Zelle, deren Kern gelb leuchtet und deren Cytoplasma blau fluoresziert. Diese Zelle hat beide Tracer aufgenommen, sie projiziert also über Kollaterale zu beiden SC.



C.

————— 50 μ m

Das Vorgehen für die Tiervorbereitung ist gleich dem in 3.2.1, 3.2.2 und 3.2.3 (Teil I) beschriebenen.

3.2.1 Injektionsverfahren und Überlebenszeiten

Alle vier verwendeten Markiersubstanzen wurden mit Druck in das stratum griseum profundum des SC injiziert. Die Injektion erfolgte mit einer 1 μ l Hamilton-Spritze an die eine Glasmikroelektrode (Spitzendurchmesser: 20 μ m) mit Cenco deKhotinsky Zement befestigt war. Nachdem das ganze System mit flüssigem Paraffin gefüllt war, wurde der jeweilige Tracer in kleiner Menge in die Elektrode aufgezogen. Die Elektrode wurde mit einem Mikromanipulator in die gewünschte Tiefe des SC eingestochen. Zur Injektion des jeweiligen Tracers wurde der Kolben der Hamiltonspritze mit einem hydraulischen Elektrodenvorschub vorgedrückt. Einer Vorwärtsbewegung des Elektrodenvorschubes um 1000 μ m entsprach dabei eine injizierte Tracermenge von 20 nl. Injiziert wurden jeweils 30 nl.

Die verwendete Überlebenszeit war von Tracer zu Tracer verschieden, da die Markiersubstanzen unterschiedlich schnell in Neuronen transportiert werden. Beispielsweise wurden bei der Ratte folgende Transportraten beschrieben: BB und FB 40-53 mm/Tag, PI 18-24 mm/Tag und NY 60-80 mm/Tag (Taylor et al., 1983). Da sowohl BB als auch NY dazu tendieren aus den markierten Neuronen zu diffundieren und umliegende Gliazellen zu färben (Aschoff et al., 1982) muß ein Kompromiß zwischen optimaler Neuronmarkierung und Diffusion geschlossen werden. Für die durchgeführten Experimente wurden deshalb folgende Überlebenszeiten gewählt: BB, FB und NY: 17 Stunden, für PI: 43 Stunden.

3.2.2 Perfusion

Da ein langer Aufenthalt in wässrigen Medien die Konzentration der Tracersubstanzen vermindert, wurde die Zeitdauer der Perfusion so kurz wie möglich gehalten.

Das Tier wurde zunächst 7 Minuten lang mit einer Spüllösung

(Durchflußrate, 4 ml/min) perfundiert. Danach wurde die Fledermaus mit einer 4%-igen gepufferten Formaldehydlösung + 2,5% Zucker 45 Minuten lang und anschließend für 20 Minuten mit gepufferten Lösungen zunehmender Zuckerkonzentrationen (5% und 10% Saccharose) perfundiert.

Das Hirn wurde dann herauspräpariert und 2 Stunden lang in einer 20%-igen Zuckerlösung aufbewahrt (4°C).

3.2.3 Einbetten, Einfrieren und Schneiden

Das Gehirn wurde sofort nach dem Auswaschen in Eidotter eingebettet (Siehe 3.2.7, Teil I), eingefroren und bei -14°C im Kryostat 48 µm dick in der Frontalebene geschnitten. Die gefrorenen Schnitte wurden direkt mit 0,025M Phosphatpuffer auf beschichtete (Gelatine/Chromalaun) Objektträger aufgezogen.

Die Schnittserien wurden bei 4°C Celsius im Dunkeln aufbewahrt, um ein "Fading" der Markierungssubstanzen zu verlangsamen.

3.2.4 Auswertung

Die Schnitte wurden innerhalb der jeweils folgenden Woche an einem Polyvar-Mikroskop mit Auflichtfluoreszenzeinrichtung und Zeichenapparat ausgewertet und mit einem 400 ASA Ektachrome Film (wie ein 50 ASA Film belichtet) photographiert. Dabei zeigte sich, daß eine Unterscheidung der Tracer mit den Augen einfacher war, als auf den Photographien, da es dabei immer zu Farbverschiebungen, besonders bei NY, kommt.

Nach Auswertung der Schnitte wurde die Hälfte der jeweiligen Serie mit Neutralrot gefärbt, um eine Zuordnung von markierten Zellen und Kerngebieten zu ermöglichen. Durch die Färbung werden allerdings alle Fluoreszenztracer ausgewaschen.

4. Ergebnisse

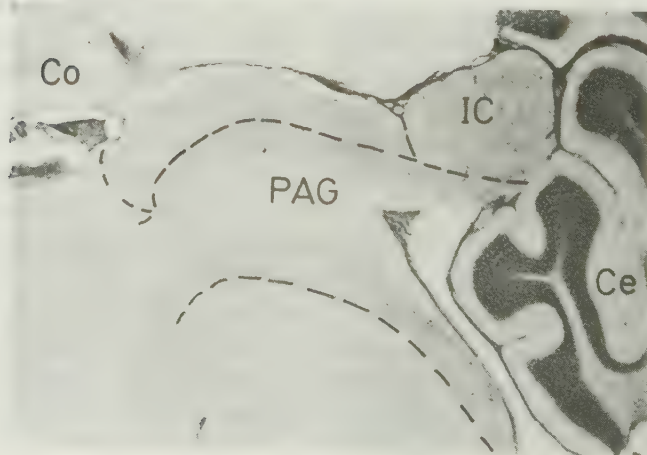
4.1 Lage und Struktur des Colliculus superior

4.1.1 Lage des Kernes

Von oben gesehen erscheinen die beiden Colliculi superiores (SC) wie zwei dreieckige Strukturen, eingebettet zwischen dem Cerebrum rostral und den schon oberflächlich am Schädel erkennbaren Colliculi inferiores (IC) caudal (vergl. Abb.2B).

Der SC bildet zusammen mit dem IC das Dach des Mittelhirns. Er wird caudal begrenzt durch den IC, der an seinem rostralen Ende die caudalen Bereiche lateral und ventrolateral umgreift. Dorsomedial und medial stößt der SC mit seinem Stratum griseum profundum direkt an das Zentrale Höhlengrau. Die ventrale Grenze wird durch das tegmentum des Mittelhirns gebildet. Rostral geht der SC, ohne scharf begrenzt zu sein, in die Kerne der präoptischen Region über.

Abbildung 24: Sagittaler Schnitt durch das Cerebellum (Ce), den IC, den SC, das Höhlengrau (PAG) und den Cortex (Co), in einer medialen Ebene (500 µm von der Mittellinie); Die gestrichelten Linien geben die Grenzen der zitierten Strukturen an. Kresylechtviolett-Färbung. Links rostral, oben dorsal.



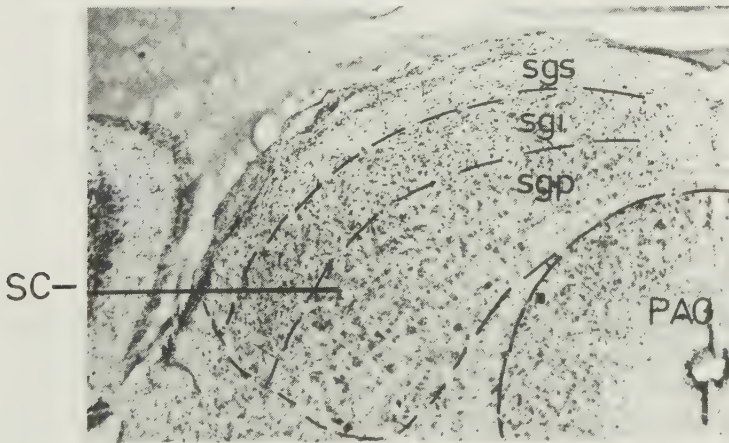
— 1000 µm

Die maximale rostrocaudale Ausdehnung beträgt 2800µm. Die dorso-ventrale Dicke des SC steigt von medial 270 µm nahezu kontinuierlich nach lateral an, um in seinen lateralsten Bereichen eine maximale Dicke von 1600 µm zu erreichen, wobei hauptsächlich die tiefen Schichten an Dicke zunehmen. Die mediolaterale Ausdehnung dieses Nucleus beträgt 1800 µm.

4.1.2 Struktur des Colliculus superior und Zelltypen

a) Struktur des Colliculus superior

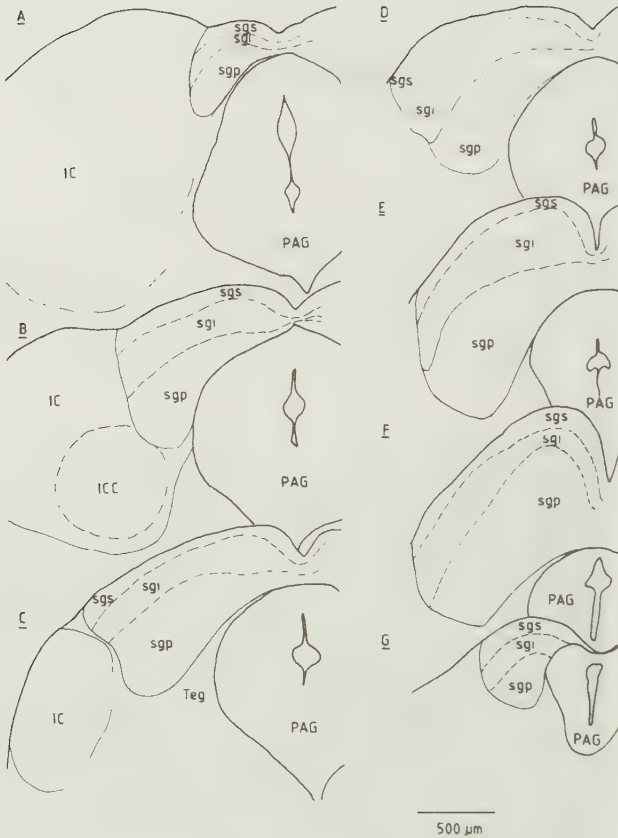
Der SC erscheint in histologischen Schnitten in mehrere untereinanderliegende Zellschichten gegliedert. Diese Schichtung ist besonders gut an Frontalschnitten zu erkennen (Abb. 25).



A.

————— 500 µm

Abbildung 25: A) Ausschnitt eines Frontalschnittes 1300 µm vom caudalen Ende des Colliculus superior (SC) entfernt. Die drei Nervenzellschichten sind leicht erkennbar: das Stratum griseum superficiale (sgs), mit kleinen Nervenzellen, das Stratum griseum intermediale (sgi), mit seinen dichter gepackten mittelgroßen Zellen und das Stratum griseum profundum (sgp) mit größeren Nervenzellen, das direkt an das Zentrale Höhlengrau (PAG) stößt.



B.

Abbildung 25: B) Frontale Schnittserie durch die ganze rostro-caudale Ausdehnung des Colliculus superior. Die Schnitte liegen 420 µm voneinander entfernt und zeigen die drei Schichten des SC. Die Serie läuft von A bis G von caudal nach rostral. Schnitt A stellt den "Nullpunkt" für die Messung der Entfernung der Injektionsorte vom caudalen Ende des SC dar. Abkürzungen: IC: Colliculus inferior; ICC: Zentraler Kern des Colliculus inferior; PAG: Höhlengrau; Teg: Tegmentum; sgi: Stratum griseum intermediale; sgp: Stratum griseum profundum; sgs: Stratum griseum superficiale.

Von dorsal nach ventral folgen aufeinander:

1) Stratum griseum superficiale: Die Schicht setzt sich aus kleinen (Durchmesser ca. 5 μm) runden Nervenzellen zusammen, die locker angeordnet sind. Diese Schicht ist medial ca. 170 μm und lateral 270 μm dick. Sie geht nach unten ohne scharfe Grenze über in das Stratum griseum intermediale.

2) Stratum griseum intermediale: Die Nervenzellen dieser Schicht (rund, fusiform und dreieckig) sind wesentlich größer (Durchmesser 10-15 μm) und dichter gepackt. Die Schicht ist medial 200 μm und lateral 540 μm dick.

3) Stratum griseum profundum: Mittelgroße und große Zellen (Durchmesser 20-35 μm), weniger dicht gepackte Neurone bilden diese Zellschicht. Die Schicht ist medial etwa 200 μm , lateral aber 880 μm dick.

Die Begrenzung zwischen den verschiedenen Schichten ist schwer zu erkennen.

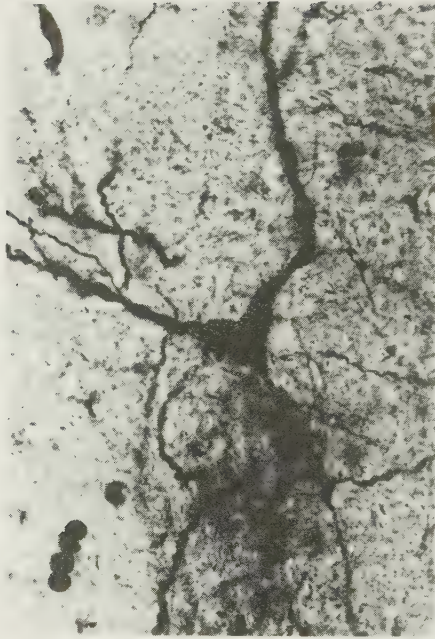
Im folgenden Text wird das Stratum griseum intermediale auch als die mittlere Schicht des SC und das Stratum griseum profundum als die tiefe Schicht des SC bezeichnet.

b) Zellstruktur

Eine detaillierte, vollständige Untersuchung über die Zelltypen, aus denen sich die einzelnen Schichten des SC zusammensetzen, wurde in dieser Arbeit nicht durchgeführt. Bei den HRP-Experimenten wurden aber stets "Golgi-ähnlich" markierte Neurone in der Nähe der Injektionsorte gefunden. Diese Zelltypen sollen hier kurz beschrieben werden. Da nur verhältnismäßig wenige Neurone angefärbt wurden, kann keine Aussage über die quantitative Verteilung der einzelnen Neurontypen gemacht werden.

Aufgrund der Somaform und der Anordnung der Dendriten wurden drei Neurontypen, die gleich häufig sind, im Stratum intermediale und Stratum profundum unterschieden (Abb. 26).

Der erste Neurontyp besitzt ein spindelförmiges Zellsoma mit einem Längsdurchmesser von ca. 100 μm und einem Querdurchmesser von ca. 25 μm . An den Somapolen entspringt je ein Hauptdendrit. Die Dendriten verzweigen sich nur einmal somanah

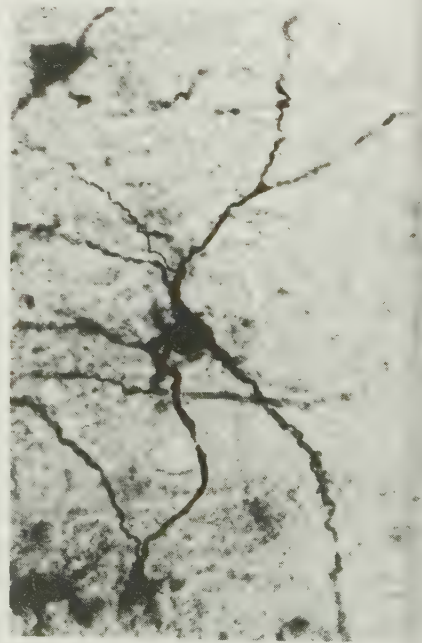
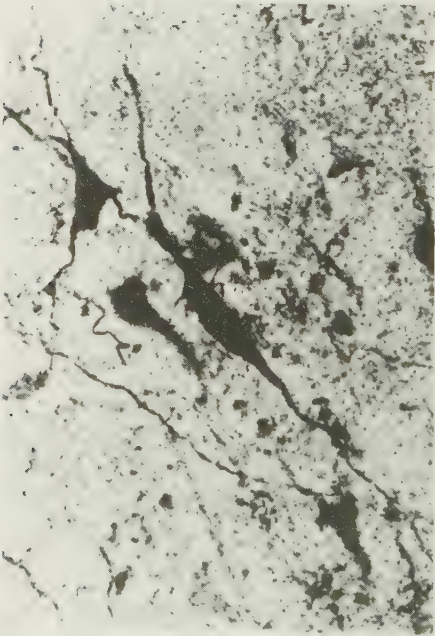


50µm

Abbildung 26: Drei Neurontypen im Colliculus superior der Fledermaus Eptesicus fuscus. Diese Zellen wurden anhand von DAB-reagierten Serien im stratum griseum profundum und intermediale erhalten.

- A. Spindelförmiges Neuron
- B. Dreieckiges Neuron
- C. Rundes Neuron

Für Abb. A, B u. C. gilt der selbe Maßstab.



A

B

und erreichen eine Länge von ca 250 μm . Das Axon entspringt am Zellsomapol in der Nähe eines Hauptdendriten mit einem ausgeprägten Axonhügel. Das Zellsoma und die Dendriten liegen senkrecht zur Schichtorientierung. Die Dendriten erreichen die Nachbarschicht oder sogar das Zentrale Höhlengrau.

Der zweite Neurontyp hat ein dreieckiges Zellsoma (Durchmesser ca. 35 μm). Drei nur einmal verzweigte Dendriten entspringen von den drei Ecken des Somas und stehen ungefähr im Winkel von 120° zueinander. Die Hauptrichtung der Dendriten ist senkrecht zur Schichtorientierung und die Dendriten sind nicht auf eine Schicht begrenzt.

Der dritte Neurontyp ist multipolar. Sein Soma ist rund mit einem Durchmesser von ca. 35 μm . Vier bis sechs nur wenig verzweigte Dendriten entspringen vom Zellsoma. Die Sekundärdendriten sind mit Spines besetzt. Dieser Neurontyp ist mit seinen Dendriten, die in Richtung der Schicht verlaufen, mehr auf eine Schicht begrenzt als die anderen.

4.2 Tracerexperimente

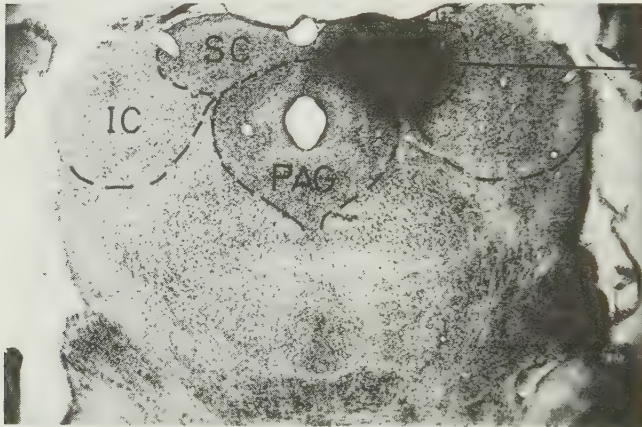
Die Afferenzen und Efferenzen des Colliculus superior wurden bei fünf Tieren mittels der Meerrettichperoxidase (HRP) und bei drei Fledermäusen mittels Fluoreszenztracern (BB, FB, NY, PI) untersucht.

4.2.1 HRP-Experimente

a) Injektionsorte

Da die TMB-Methode, bedingt durch die Empfindlichkeit der Nachweisreaktion, die Injektionsorte sehr diffus erscheinen läßt, wurde die Ausdehnung der Injektionsorte an DAB-Serien bestimmt. Als Injektionsort betrachtet man die dunklere Zone des Injektionsortes aber auch die helle Diffusionszone. Abbildung 27 zeigt einen "typischen" Injektionsort nach iontophoretischer Tracerinjektion. Die Abbildung 28 stellt die fünf HRP-Injektionsorte dar, die über die gesamte rostro-caudale Ausdehnung des Kerns verteilt sind.

Abbildung 27: Frontaler, DAB-reagierter Schnitt ca. 288 μm vom caudalen Ende des Colliculus superior (SC) entfernt (Fleidermaus EF19). Das Zentrum des Injektionsortes liegt im SC in seinem Stratum griseum profundum. Die helle Diffusionszone betrifft Teile des Höhlengraus (PAG) und des Stratum griseum intermediale. IC: Colliculus inferior.



1000 μm

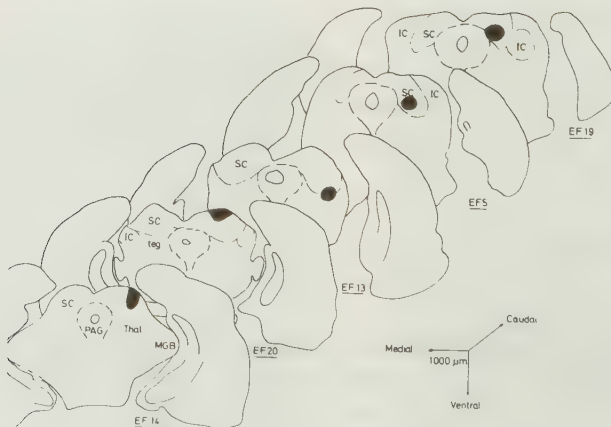


Abbildung 28: Die fünf HRP-Injektionsorte verteilen sich auf der ganze rostrocaudale Ausdehnung des Colliculus superior. Die schwarzen Zonen stellen die Injektionsorte einschließlich der Diffusionszone dar. Abkürzung: IC: Colliculus inferior; MGB: Corpus geniculatum mediale; SC: Colliculus superior; Teg: Tegmentum; Thal: Thalamus.

Die beiden rostralen Injektionen im Experiment EF14 und EF20 liegen oberflächlich 1730 μm vom caudalen Ende des SC entfernt. Der Durchmesser beträgt 318 μm / 545 μm . Das Zentrum der Injektion liegt im Stratum griseum intermediale. Der gesamte Injektionsort betrifft Teile des Stratum griseum superficiale und des Stratum griseum profundum.

Die mittlere Injektion im Experiment EF13 liegt ventral (1300 μm von der Oberfläche) und lateral (1360 μm von der Mittellinie) im SC, 620 μm von seinem caudalen Ende. Ihr Durchmesser beträgt 360 μm . Das Zentrum des Injektionsortes liegt im Stratum griseum profundum; Der gesamte Injektionsort betrifft auch Teile des dorsalen Tegmentums.

Die beiden caudalen Injektionen im Experiment EF5 und EF19 liegen medial im SC (900 μm /750 μm von der Mittellinie), 432 μm /288 μm von seinem caudalen Ende entfernt. Der Durchmesser beträgt 370 μm /455 μm . Das Zentrum der Injektionen liegt im Stratum profundum. Der gesamte Injektionsort im Fall EF5 betrifft Teile des Stratum griseum intermediale. Im Fall EF19 betrifft der gesamte Injektionsort auch Teile des Höhlengraus.

b) Faserbündel

Bei allen HRP-Experimenten wurden Reaktionsprodukte in den Zellkörpern, in Axonen und teilweise in Dendriten gefunden. Dabei fiel auf, daß immer mehr markierte Axone vorhanden waren, als von der Anzahl markierter Neurone zu erwarten wäre. Es ist bekannt, daß HRP sowohl retrograd als auch anterograd in Neuronen transportiert wird, was eine Erklärung für das oben angeführte Phänomen sein könnte. Es wurden jedoch nur in seltenen Fällen markierte Axonterminalstrukturen gefunden, so daß bei den Faserbündeln, die nicht von markierten Zellen bis zum SC zu verfolgen sind, keine eindeutige Aussage gemacht werden kann, ob es sich dabei um anterograden oder um unvollständigen retrograden Transport handelt.

Vom Injektionsort im SC aus sind in allen Experimenten drei mächtige Faserbündel zu verfolgen. Zwei dieser Bündel laufen um das Höhlengrau (PAG) herum zur contralateralen Seite (Abb. 29). Der erste Faserstrang kreuzt die Hirnmittellinie dorsal vom PAG durch die Kommissur des Colliculus superior und er-

reicht den contralateralen SC. Das zweite entspringt vom Stratum griseum profundum, wendet sich um das PAG herumziehend nach ventral, kreuzt die Mittellinie durch die dorsale tegmentale Decussation und verläuft in der lateralen Formatio reticularis nach caudal. Dieses Bündel ist bis in die Höhe der Pons verfolgbar. Das dritte und gleichzeitig massivste Faserbündel verläuft lateral im Lemniscus medialis ungekreuzt nach ventral, schließt sich im Bereich der Pons den Fasern des Tractus corticospinalis an und kreuzt gemeinsam mit diesem zwischen oberer Olive und dem motorischen Nucleus facialis. Vom Injektionsort ausgehende Fasern sind auch deutlich im IC zu erkennen.

Von den Ergebnissen her kann allerdings nicht unmittelbar geklärt werden, ob es sich bei den markierten Faserbündeln um afferente oder efferente Bahnen handelt. Sie sind aber leicht mit denen anderer Tiere zu vergleichen.

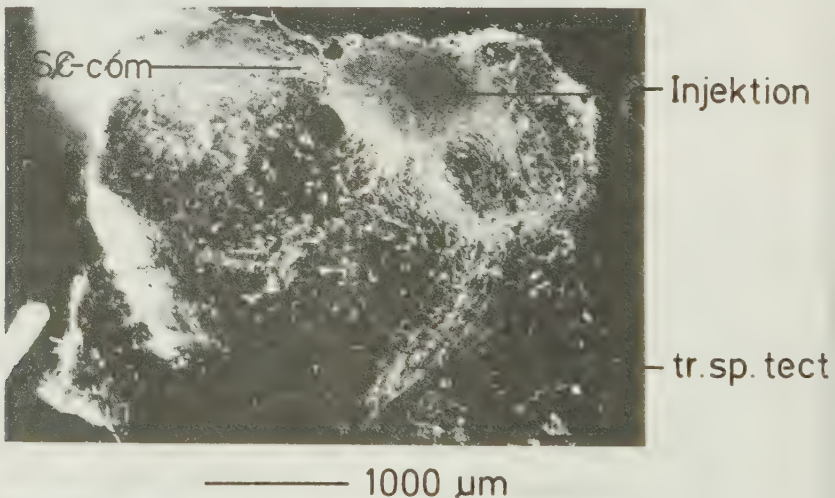


Abbildung 29: Frontaler TMB-reagierter Schnitt ca. 288 µm vom caudalen Ende des SC (EF19). Zwei von den drei im Text zitierten Faserbündeln sind auf diesem Schnitt erkennbar: Der Tractus spinoctectalis (tr.sp.tect.), und das Faserbündel, das die Kommissur des Colliculus superior bildet (SC-com). Der Injektionsort sieht viel diffuser aus, als in einem DAB-reagierten Schnitt (vergl. Abb. 27).

c) Zum SC projizierende Hirnstrukturen

Da es Absicht dieser Arbeit war, die afferenten Projektionen aus anderen Hirngebieten zum SC in ihrer Gesamtheit zu untersuchen, werden zunächst die Ergebnisse zusammengefaßt aus allen HRP-Experimenten beschrieben. Daran anschließend werden zwei Einzelbeispiele dargestellt, die zeigen sollen, daß es auch topographische Unterschiede von Tier zu Tier im Projektionsmuster gibt.

Nach Injektion von HRP in die oben angegebenen Bereiche (Siehe §a) des SC wurden markierte Neurone in folgenden Hirnstrukturen gefunden:

Neocortex ipsilateral: Markierte Neurone wurden in einem großen Bereich des Vorderhirns gefunden, der sich vom frontoparietalen bis zum occipitalen Neocortex erstreckt. Die Neurone liegen in einem Band angeordnet ausschließlich in der Schicht V und zeigen, sofern auch die Dendriten markiert waren, das typische Bild von Pyramidenzellen. Das Zellband beginnt unmittelbar dorsal der Fissura rhinalis und erstreckt sich frontal ca. 1000 µm, caudal ca. 2000 µm nach dorsal. Einige Zellen wurden auch in der Schicht V des cingulären und postcingulären Cortex gefunden. In der Diskussion soll aus dem Vergleich mit anderen Säugern geklärt werden, in welchen funktionellen Cortexarealen die markierten Zellen lokalisiert sind.

Thalamus: Im Diencephalon wurden markierte Neurone im ventralen Thalamus gefunden. Die Zellen bilden ipsilateral ein von dorsolateral nach ventromedial gerichtetes Zellband, das sich durch die gesamte Zona incerta erstreckt. Nach caudal anschließend wurde eine große Zahl markierter Neurone ipsi- und contralateral in der Substantia nigra gefunden. Die Zellen liegen unmittelbar dorsal vom Pedunculus cerebri über dessen gesamte mediolaterale Ausdehnung.

Mittelhirn: Markierte Zellen liegen im Stratum griseum intermediale und Stratum griseum profundum des contralateralen

SC verteilt, die ihre Axone in die Kommissur des SC entsenden. Im Colliculus inferior wurden nur sehr wenig markierte Neurone gefunden. Diese liegen contralateral verstreut im lateralen Bereich und ipsilateral verstreut im zentralen Kern.

Cerebellum: Zum SC projizierende Neurone wurden ipsi- und contralateral im Nc. medialis cerebelli und nur contralateral im Nc. lateralis cerebelli gefunden. Wenige markierte Neurone liegen verstreut in den medialen Kernen, wobei die Anzahl ipsilateral höher als contralateral war. Die Zahl markierter Neurone im lateralen Kern lag noch niedriger.

Medulla oblongata: Zellen waren markiert im Locus coeruleus ipsilateral, contralateral im Nc. tractus solitarius, Nc. sensorius principalis nervi trigemini, Nc. cuneatus, und caudal im Nc. tractus spinalis nervi trigemini. Die meisten markierten Neurone liegen in den Hinterstrangkernen und im Nc. cuneatus.

Rückenmark: Einige wenige Neurone waren im Hinterhorn des Cervicalmarks markiert.

Im folgenden werden zwei Experimente beschrieben, bei denen HRP in unterschiedliche Gebiete injiziert wurde. In Fall EF20 (Abb. 30) wurde HRP frontal in den SC 904 μm vom caudalen Ende entfernt injiziert. Die oben beschriebenen Faserbündel (§b) sind zu sehen, aber aus Gründen der Klarheit des Bildes nicht dargestellt. In allen vorher genannten Hirngebieten wurden markierte Neurone nachgewiesen mit Ausnahme von IC, Nc. sensorius principalis nervi trigemini und Rückenmark.

Fall EF19: Meerrettichperoxidase wurde in den caudalen SC injiziert (ca. 300 μm vom caudalen Ende des SC). Die drei Faserbündel sind noch deutlicher als im Fall EF20 zu erkennen und sind in Abbildung 31 dargestellt. Markierte Zellen sind in allen oben beschriebenen Kerngebieten zu finden und zusätzlich im Vergleich zu EF20 im contralateralen IC. Im ipsilateralen zentralen Kern des IC sind Fasern und Zellen markiert.

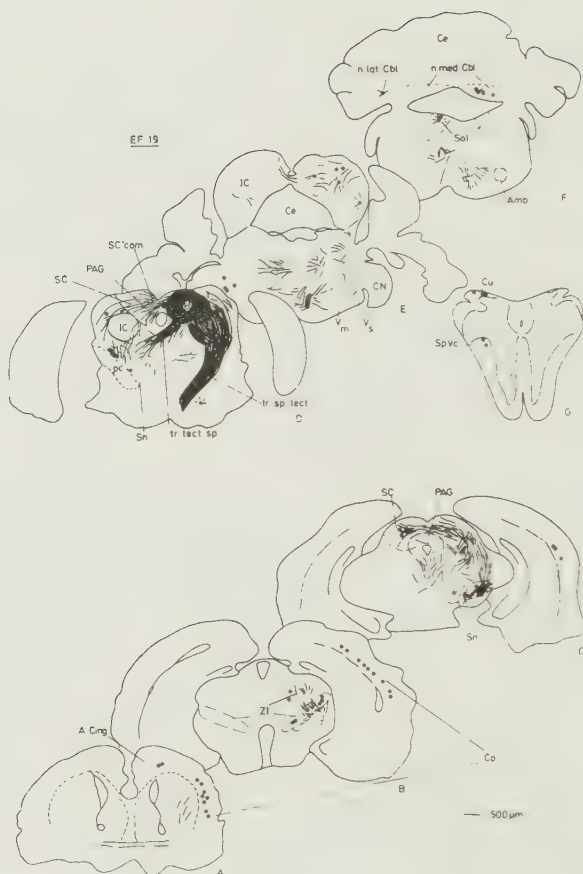


Abbildung 31: Markierte Zellen und Faserbündel im Gehirn von EF19 288 μ m vom caudalen Ende des SC. Die schwarzen Punkte symbolisieren die markierten Zellen; Die schwarze Zone stellt den Injektionsort (mit TMB-reagierte Serie) dar. Die Schnitte A-F liegen 1000 μ m voneinander entfernt. Schnitte F und G sind nur 700 μ m voneinander entfernt. Abkürzungen: A cing: Area cinguli; Amb: Nc. ambiguus; Ce: Cerebellum; CN: Nc. cochlearis; Co: Cortex; Cu: Nc. cuneatus; IC: Colliculus inferior; n lat Cbl: Nc. lateralis cerebelli; n med Cbl: Nc. medialis cerebelli; PAG: Höhlengrau; pc: Pedunculus cerebri; SC: Colliculus superior; SC'com: SC-Kommissur; Sn: Substantia nigra; spVc: Nc. tractus spinalis n. trigemini; tr sp tect: tractus spinotectalis; tr tect sp: tractus tectospinalis; Vm: Nc. motorius principalis n. trigemini; Vs: Nc. sensorius principalis n. trigemini; ZI: Zona incerta.

4.2.2 Fluoreszenztracer-Experimente

Da bei den HRP-Experimenten in einigen Kerngebieten nur wenige Neurone markiert waren, wurden in zusätzlichen Experimenten Fluoreszenztracer injiziert. Die Absicht war, zum einen die in den HRP-Experimenten gefundenen Projektionen zu erhärten und zum anderen durch Injektion von zwei verschiedenen Tracern in beide SC eines Tieres Neurone zu suchen, die über Kollaterale in beide SC projizieren.

a) Injektionsorte

Die Injektionsorte von Fluoreszenztracern erscheinen viel diffuser als die von HRP-Experimenten. Das liegt daran, daß die Fluoreszenztracer sehr stark aus den Zellen diffundieren. Zusätzlich tritt auch das Problem der injizierten Menge auf, da bei Druckinjektion mehr Tracer als bei der iontophoretischen Methode appliziert wurde. Im folgenden werden die Injektionsorte der vier verwendeten Fluoreszenztracer getrennt beschrieben.

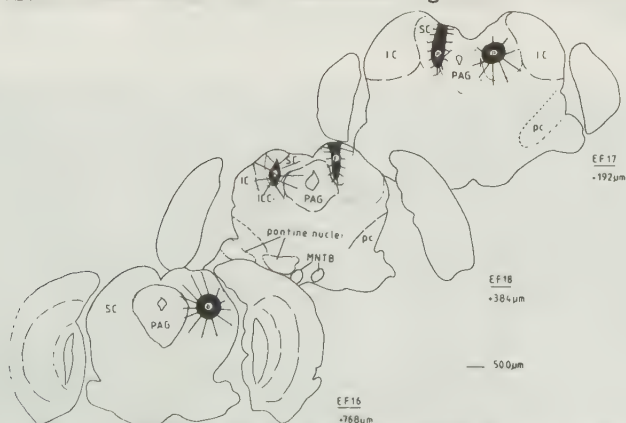


Abbildung 3c: Fluoreszenztracer-Injektionsorte. Die vier verwendeten Tracer wurden entweder in Kombination miteinander (wie bei EF18 und EF17) oder allein (bei EF16) injiziert. Die schwarzen Zonen stellen die Injektionsorte und die gestrichelten Zonen die Diffusionszone dar. Die Zahlen geben die Entfernung der Injektionen vom caudalen Ende des Colliculus superior an. Abkürzungen: IC: Colliculus inferior; ICC: Zentraler Kern des IC; MNTB: Trapezkörper; PAG: zentrales Höhlengrau; pc: pedunculus cerebri.

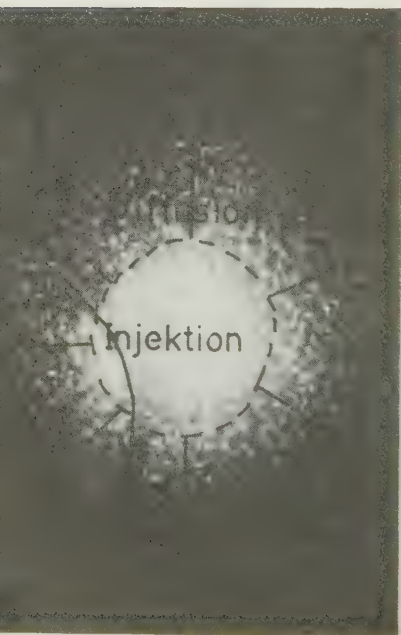
1) Bisbenzimidide (BB)

Im Fall EF16 liegt das Zentrum der Injektion im Stratum griseum profundum, 768 μm vom caudalen Ende des SC entfernt. Der gesamte Injektionsort betrifft Teile des Stratum griseum intermediale und des zentralen Höhlengraus. Die Diffusionszone erreicht das Stratum griseum superficiale und das dorsale Tegmentum. Der Durchmesser des Injektionsortes beträgt 570 μm und mit der Diffusionszone ca. 700 μm (Abb. 33A).

2) Fast Blue (FB)

Im Fall EF18 wurde FB im SC, 384 μm von seinem caudalen Ende und 600 μm von der Mittellinie entfernt, appliziert. Das Zentrum der Injektion liegt im Stratum griseum profundum. Die gesamte Injektion betrifft Teile des Stratum griseum intermediale und des stratum griseum superficiale. Der Durchmesser beträgt 60 μm für den Injektionsort selbst und 300 μm einschließlich der Diffusionszone. Durch Diffusion wurde das PAG auch betroffen (Abb. 33B).

Abbildung 33: Injektionsorte der vier verwendeten Fluoreszenz-tracer
A) Bisbenzimidide; B) Fast Blue.



B.

3) Nuclear Yellow (NY)

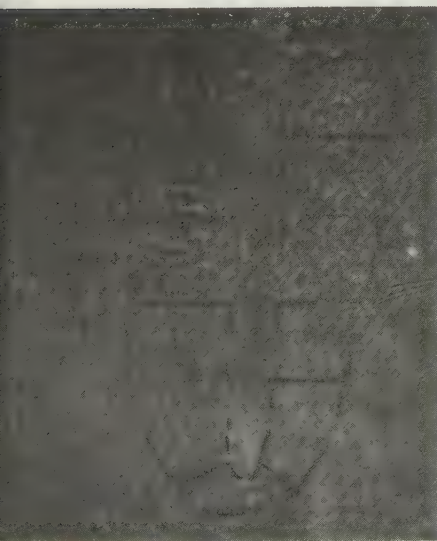
In den anderen SC derselben Fledermaus (EF18) wurde NY, symmetrisch zu FB, 1000 μm von der Mittellinie entfernt injiziert. Das Zentrum des Injektionsortes liegt im Stratum griseum profundum und die Injektion betrifft teilweise das Stratum griseum intermediale. Der Durchmesser beträgt 500 μm . Die Diffusion des Tracers hat Teile des IC und des PAG betroffen. Der Durchmesser des Injektionsortes einschließlich seiner Diffusionszone beträgt ca. 1210 μm (Abb. 33D).

4) Propidium iodide (PI)

PI wurde 192 μm vom caudalen Ende des SC entfernt in EF17 appliziert. Das Zentrum der Injektion liegt im Stratum griseum profundum. Der Durchmesser des Injektionsortes selbst beträgt 360 μm , und mit seiner Diffusionszone 710 μm . Der gesamte Injektionsort betrifft Teile des Stratum griseum intermediale und des Stratum griseum superficiale. Das Höhlengrau wurde durch Diffusion des Tracers auch betroffen (Abb. 33C).

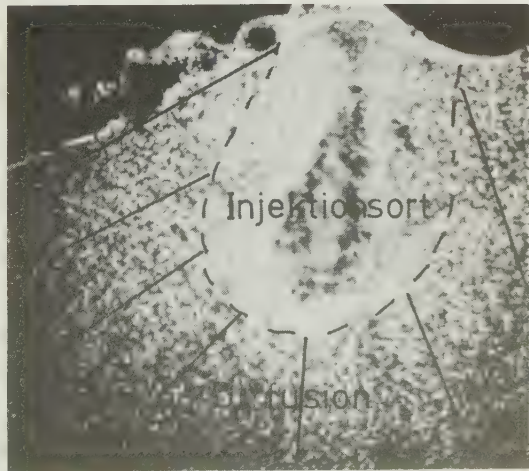
Abbildung 33:

C) Propidium iodide; D) Nuclear Yellow.



C.

— 100 μm



D.

— 100 μm

b) Zum SC projizierende Hirnstrukturen

Da bei allen Fluoreszenztracern identische Projektionen auftraten, sollen die Ergebnisse am Beispiel EF18 dargestellt werden. Anschließend werden die Unterschiede zwischen den HRP- und den Fluoreszenztracer-Experimenten beschrieben.

Im Beispiel EF 18 (Abb.34) wurde NY in den linken und FB in den rechten SC eines Tieres injiziert. Der NY-Injektionsort überdeckt einschließlich seiner Diffusionszone Teile des PAG, des IC, des Stratum griseum intermediale und des Stratum griseum profundum, der FB-Injektionsort: hauptsächlich alle Schichten des SC und einen kleinen Teil des PAG. Beide Injektionen liegen 384 μ m vom caudalen Ende des SC entfernt, die NY-Injektion lateraler als die FB-Injektion.

Die Projektionsgebiete zu den beiden SC sind symmetrisch. Deshalb sollen sie hier im Zusammenhang beschrieben werden. Um einen Vergleich mit den HRP-Experimenten zu ermöglichen werden die Ergebnisse in der gleichen Form wie dort dargestellt.

Neocortex ipsilateral: Wie in den HRP-Experimenten wurde in weiten Bereichen des Neocortex, die sich von frontoparietal nach occipital erstrecken, markierte Zellen in der Schicht V gefunden. Die ersten Zellen tauchen 800 μ m vom rostralen Pol des Cortex auf. Das Zellband beginnt dorsal der Fissura rhinalis und erstreckt sich nach dorsal bis zur Hirnmittellinie. Besonders viele Zellen wurden in der Area cinguli und im postcingulären Cortex gefunden (Abb. 35). Die Projektion ist streng ipsilateral.

Thalamus: In vier verschiedenen Gebieten sind markierte Neurone zu sehen. In der Zona incerta sind über ihre ganze Ausdehnung Zellen mit Tracer gefüllt. Die Projektion ist ipsilateral. Daran anschließend folgen caudal ohne scharfen Übergang markierte Neurone direkt dorsal vom Pedunculus cerebri in der Substantia nigra bis zu deren caudalen Ende. Die meisten Zellen projizieren ipsilateral. Dazwischen liegen vereinzelt Zellen, die contralateral projizieren. Neben diesen einfach markierten Zellen wurden auch wenige Neurone ge-

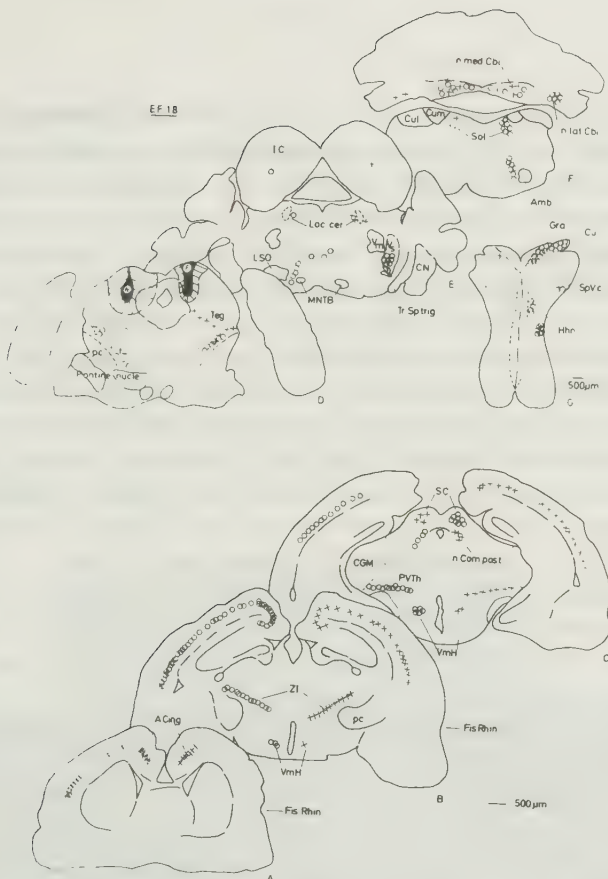


Abbildung 34: Markierte Zellen im Gehirn der Fledermaus EF18

nach Druckinjektion von NY im linken und FB im rechten SC 384 µm vom caudalen Ende des SC entfernt. Die Schnitte A bis F liegen 1000 µm voneinander entfernt. Zwischen F und G steht ein Abstand von 420 µm. Die schwarzen Zonen stellen die Injektionsorte und die gestrichelten Diffusionszonen dar. Alle markierten Zellen sind nicht dargestellt. Ein Symbol (Kreuze für FB und leere Kreise für NY) stellt 3-4 markierte Zellen dar. Abkürzungen: A Cing: Area cinguli; Amb: Nc. ambiguus; CGM: Corpus geniculatum mediale; CN: Nc. cochlearis; Cu: Nc. cuneatus; Fis rhin: Fissura rhinalis; Gra: Nc. gracilis; Hhn: Nc. des Hinterhorns des Rückenmarks; IC: Colliculus inferior; Loc cer: Locus coeruleus; LSO: laterale obere Olive; MNTB: Trapezkörper; n Com post: Nc. commissura posterioris; n lat Cbl: Nc. lateralis cerebelli; n med Cbl: Nc. medialis cerebelli; pc: Pedunculus cerebri; PVTh: Paraventraler Thalamus; SC: Colliculus superior; SpVc: Nc. tractus spinalis n. trigemini; Teg: Tegmentum; Tr Sp trig: Tractus spinalis nervi trigemini; Vm: Nc. motorius principalis n. trigemini; VmH: Nc. ventromedialis hypothalami; Vs: Nc. sensorius principalis n. trigemini; ZI: Zona incerta.

funden, deren Cytoplasma blau und deren Kern gelb fluoreszieren, die also beide Tracer aufgenommen hatten. Diese Neurone projizieren also gleichzeitig zu beiden SC. Weitere einzelmarkierte Zellen waren im Hypothalamus ipsilateral im Nc. ventromedialis hypothalami markiert. Zusätzlich sind Zellen im Nc. commissura posterior ipsilateral markiert.

Mittelhirn: Im Mittelhirn befinden sich projizierende Neurone contralateral im SC im stratum griseum profundum und im Stratum griseum intermediale. Einige markierte Neurone wurden ipsilateral im zentralen Kern des IC gefunden. Ventral des SC sind ipsilateral Neurone verstreut im dorsalen Tegmentum markiert.

Cerebellum: Eine große Anzahl markierter Neurone befindet sich contralateral im Nc. lateralis cerebelli und ipsi- und contralateral im Nc. medialis cerebelli. Die Neurone sind jeweils über die gesamten Kerne verstreut.

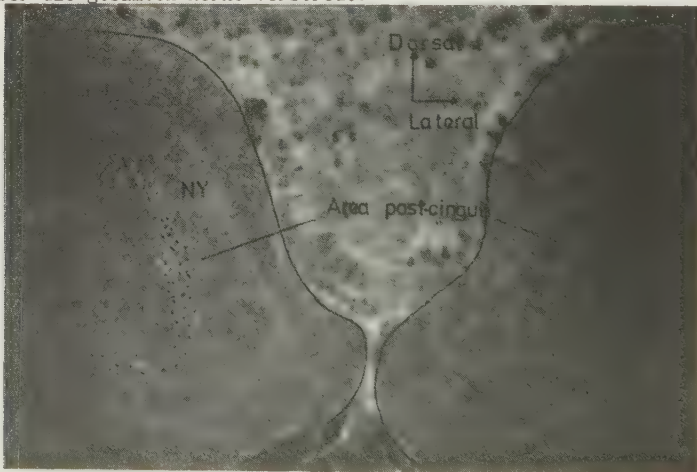
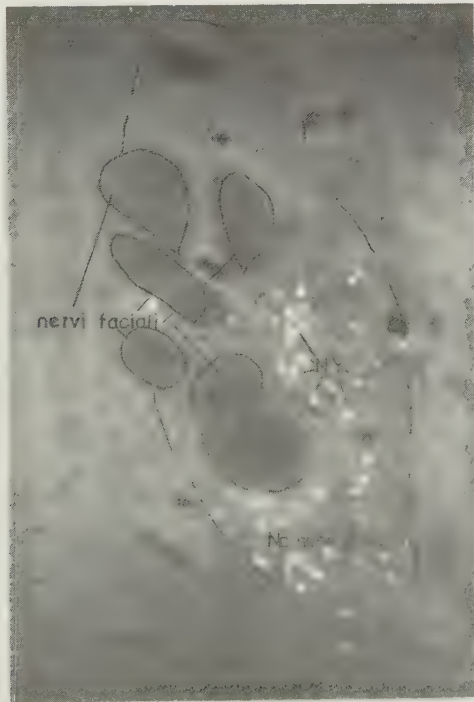


Abbildung 35: Markierte Zellen in der postcingulären Area. Symmetrische Projektion nach Injektion von NY in den linken und FB in den rechten SC, 384 µm vom caudalen Ende des SC entfernt. Die Markierungen sind streng ipsilateral.

Medulla oblongata: In der Medulla liegen markierte Neurone teilweise verstreut in der Formatio reticularis, teilweise in dichten Anhäufungen in definierten Kernbereichen. Die in der Formatio reticularis liegenden Neurone konzentrieren sich ipsilateral medial der lateralen oberen Olive in deren caudalen Bereichen, medial des Nc. facialis und contralateral medial des Nc. ambiguus. Die Hauptmenge der gefundenen Neurone liegt aber innerhalb des Nc. tractus solitarius contralateral, ipsilateral im Locus coeruleus und contralateral im ventralen Teil des Nc. sensorius principalis n. trigemini (Abb. 36). Am Übergang zum Rückenmark fluoreszieren Zellen contralateral in den Hinterstrangkernen Nc. gracilis und Nc. cuneatus. Die Markierung in diesen Kernen ist sehr dicht.



— 100 µm

Abbildung 36: Nuclear Yellow markierte Zellen im Nc. sensorius principalis n. trigemini. Die Projektion ist streng contralateral. VII: Nervi faciali.

Rückenmark: Markierte Neurone überdecken den caudalen Pol des Nc. tractus spinalis nervi trigemini contralateral. Im Gegensatz zu den HRP-Experimenten liegen viele stark leuchtende Neurone contralateral medial im Hinterhorn der oberen Cervicalsegmente und direkt caudal davon am lateralen Rand des Rückenmarks im Nc. lateralis cervicalis.

3) Vergleich HRP / Fluoreszenztracer

Im Gegensatz zu den HRP-Experimenten wurden in den Experimenten mit Fluoreszenztracern wesentlich mehr markierte Neurone gefunden. Dies ist vermutlich auf die größeren Injektionsorte und die größere Tracermenge zurückzuführen. Alle Projektionen, die in den HRP-Experimenten gefunden wurden, konnten auch mit den Fluoreszenztracern nachgewiesen werden. Zusätzlich traten jedoch markierte Neurone in folgenden Kernen auf: Im Thalamus: im Nc. ventromedialis hypothalami und im Nc. commissura posterioris; In der Medulla oblongata: im Formatio reticularis und im Nc. gracilis und im Rückenmark: im Nc. lateralis cervicalis.

5. Diskussion

5.1 Methoden

Zum Nachweis der zentralen Verschaltung des Colliculus superior wurden in der vorliegenden Arbeit zwei verschiedene Tracer-Methoden verwendet: der anterograde und retrograde neuronale Transport von HRP und der Nachweis von retrograd transportierten Fluoreszenztracern.

Beide Methoden haben dieselben afferenten Projektionen ergeben, die jedoch mit den Fluoreszenztracern wesentlich deutlicher nachzuweisen waren. Dies kann zum einen an den unterschiedlichen Tracermengen (iontophoretische Injektion bei HRP, Druckinjektion bei den Fluoreszenztracern) liegen, zum anderen wäre es möglich, daß die Fluoreszenztracer schneller oder vollständiger transportiert werden oder, daß der Nachweis im Fluoreszenzmikroskop empfindlicher ist, als der Nachweis von HRP. Für die zweite Möglichkeit spricht, daß auch bei Festinjektion von HRP, die eine hohe Konzentration an Tracer und einen großen Injektionsort ergab, die Zahl retrograd markierter Neurone nie so hoch war, wie bei den Fluoreszenztracer-Experimenten.

Im Gegensatz zum HRP-Nachweis sieht man bei Fluoreszenztracerinjektionen allerdings keine markierten Faserbündel, da nur der Zellkern oder das Cytoplasma markiert werden.

Der Vorteil der Fluoreszenztracer-Methode ist jedoch, daß keine aufwendige Reaktion durchgeführt werden muß und keine Artefakte auftreten. Ein weiterer Vorteil ist, daß durch die Möglichkeit unterschiedliche Tracer zu kombinieren, beide Colliculi desselben Tieres gleichzeitig untersucht werden konnten, was die Zahl der auswertbaren Experimente verdoppelte und, daß gleichzeitig Neurone erkannt werden konnten, die ihr Axon zu beiden Colliculi senden. Leider ist es noch niemandem gelungen, diese Substanzen auch iontophoretisch zu injizieren, was immer einen verhältnismäßig großen Injektionsort bedeutet (siehe unten; Diskussion der Injektionsorte).

Gegenüber der HRP-Methode zeigt die Fluoreszenzmethode drei Hauptnachteile. Zum einen unterliegen die Fluoreszenztracer einem mehr oder weniger raschen "Fading", was dazu zwingt jedes Experiment sofort und vollständig auszuwerten. Zum zweiten ist es schwieriger, markierte Neurone bestimmten Kernen zuzuordnen, da bei einer Gegenfärbung der Schnitte die Tracer ausgewaschen werden. Als dritter Nachteil ist zu beachten, daß Tracer aus markierten Zellen austreten können und benachbarte Neurone oder Gliazellen markieren können, was zu falschen Interpretationen führen kann.

Betrachtet man die erwähnten Vor- und Nachteile, so hat sich in dieser Arbeit gezeigt, daß es vorteilhaft ist, nicht nur mit einer Tracer-Methode zu arbeiten. Nur dadurch war es möglich, die Nachteile der einen Methode durch die Vorteile der anderen Methode auszugleichen. Dadurch ist es gelungen, die Projektionen des SC weit vollständiger und gesicherter darzustellen, als es alleine durch Anwendung der HRP-Methode möglich gewesen wäre.

5.2 Injektionsorte

Vergleicht man die beiden Injektionsmethoden (iontophoretische Injektion bei HRP, Druckinjektion bei den Fluoreszenztracern) miteinander, so zeigt es sich, daß die iontophoretische Injektion immer zu kleineren Injektionsorten führt. Bei den Druckinjektionen war die injizierte Menge dadurch begrenzt, daß ein bestimmter Druck erst aufgebaut werden mußte, um den Widerstand an der Elektroden Spitze zu überwinden. Ist der nötige Druck vorhanden, so wird die gewünschte Menge auf einen Stoß ins Gehirn gedrückt. Dies führt allerdings zu einer Begrenzung der Tracermenge nach unten und dadurch zu einer Begrenzung des minimal möglichen Injektionsortes. In der vorliegenden Untersuchung wurden bei den Fluoreszenztracern 30 nl gewählt, weil Vorversuche zeigten, daß diese Menge noch ohne große Ungenauigkeit injizierbar war. Auch bei den iontophoretischen HRP-Injektionen können Ungenauigkeiten auftreten. So führte eine lange Suche nach Zellaktivitäten oft schon nach kurzer

Injektionszeit zu einer Blockade der Elektrode und dadurch zu einem kleineren Injektionsort. Ein weiteres Problem ist, daß der effektive Injektionsort, also der Ort an dem Neurone den Tracer aufnehmen, nicht genau angegeben werden kann. So ist es fraglich, ob auch die Diffusionszonen, die immer um das Zentrum der Injektion zu beobachten sind, zu einem Transport und zur Markierung von Neuronen führen. Der typische Injektionsort war bei den HRP-Experimenten bei einem Injektionsstrom von 1 μ Amp und einer Dauer von 5 Minuten 200 μ m (DAB-Nachweisreaktion). Besonders ist die Diffusionszone bei den Fluoreszenztracern zu beachten. Die unterschiedlichen Tracer führen zu unterschiedlich großen Diffusionszonen. Als Beispiel: Die Injektion von 30 nl FB führte zu einem Zentrum des Injektionsortes von 350 μ m; schließt man die Diffusionszone mit ein, so erhält man 700 μ m. Bei NY führte die gleiche Tracermenge zu einem Zentrum von 500 μ m Durchmesser und einem Gesamtinjektionsort, einschließlich Diffusionszone, von 1250 μ m.

Bei allen Injektionen lag das Zentrum der Injektion im SC. Die Diffusionszonen der Injektionsorte erreichten aber bei einigen Experimenten (vor allem bei den Fluoreszenztracern) Teile des dorsolateralen Höhlengraus und des dorsalen Mittelhirntegmentums. Andere Hirnteile waren durch die Injektionen nie betroffen. Unter der Annahme, daß auch in der Diffusionszone Neurone in der Lage wären, den Tracer zu akkumulieren, führt dies dazu, daß einige der beschriebenen Projektionen nicht zum SC, sondern zum Höhlengrau oder zum Tegmentum gehören könnten.

Bei allen Experimenten, bei denen die Diffusionszone über den SC hinausreichte, traten jedoch keine anderen oder zusätzlichen Projektionen auf, die nicht auch bei den Experimenten gefunden wurden, bei denen der gesamte Injektionsort auf den SC beschränkt war. Daraus ist zu schließen, daß zum einen keine Neurone über die Diffusionszonen markiert wurden und, daß alle markierten Neurone zum SC projizieren.

5.3 Faserbündel

Anhand des HRP-Nachweises nach Mesulam und Auswertung der Schnitte am Polarisationsmikroskop wurde der Verlauf der Faserbündel untersucht, die am Injektionsort im SC entspringen. Wie oben beschrieben, verlaufen die Fasern hauptsächlich in drei Gruppen. Ein Bündel läuft durch die Kommissur des SC zur contralateralen Seite; die zweite Gruppe von Fasern kreuzt die Mittellinie des Gehirns ventral des Höhlengraus in der dorsalen tegmental Decussation. Verfolgt man dieses Faserbündel in Faser-gefärbten Schnitten weiter nach caudal (bei den HRP-Experimenten ist es nur bis in die rostrale Pons zu erkennen), so zeigt es sich, daß es sich hierbei um den Tractus tectospinalis und Tractus tectobulbaris handelt. Diese Bündel gehören zu den extrapyramidalen Bahnen, die Fasern aus dem Hirnstamm zusammenfassen und die Motorik beeinflussen. Der Tractus tectospinalis und Tractus tectobulbaris sind Bahnen, die ins Rückenmark absteigen oder an den motorischen Hirnnervenkernen enden und die Motorik von Kopf und Extremitäten beeinflussen. Die dritte Fasergruppe ist in HRP-Experimenten ungekreuzt bis in die Nähe der Pyramidenbahn zu verfolgen und bildet den lateralen Teil des Lemniscus medialis. Verfolgt man dieses Bündel in fasergefärbten Schnitten weiter, so zeigt es sich, daß es sich der Pyramidenbahn anschließt, mit dieser zwischen oberer Olive und Facialiskern nach contralateral kreuzt und danach zu einzelnen Bündeln zusammengefaßt in der lateralen Formatio reticularis verläuft. Von seiner Lage und seinem Verlauf her kann es sich hier nur um Teile des Lemniscus medialis und um aufsteigende Fasern des Tractus spinotectalis handeln.

Der mediale Lemniscus enthält die Axone der Hinterstrangkernneurone (Nc. cuneatus und Nc. gracilis) und projiziert zum Thalamus. Wie in dieser Arbeit gezeigt wurde, projizieren diese Kerne aber auch direkt zum SC und es ist anzunehmen, daß auch die zum SC-projizierenden Neurone ihre Fasern in den Lemniscus medialis entsenden. Der Tractus spinotectalis kreuzt bereits im Bereich des Rückenmarks und endet in den oberen Schichten des SC. Beim Menschen ist er für die Pupillen-

reaktion bei Schmerzempfindung verantwortlich.

Der Tractus tectospinalis und tectobulbaris entspringen im SC und wurden auch von Altman und Carpenter (1961) nach stereotaktischen Lesionen des SC der Katze mit Hilfe der Nauta-Gygax Technik nachgewiesen.

Altman und Carpenter (1961) sowie van Noort (1934) berichteten über ein starkes Faserbündel, das im SC seinen Ursprung hat und zur Pons absteigt: der Tractus tectopontinus. Die Beschreibung dieser absteigenden Bahn gilt für die Katze. In diesen Experimenten an Eptesicus fuscus wurde kein Faserbündel gefunden, das so lateral lag, wie der Tractus tectopontinus. Es ist bekannt, daß der Tractus tectopontinus visuelle Information über die Pons zum Kleinhirn sendet. Da bei Fledermäusen das visuelle System eine sehr untergeordnete Rolle spielt, wäre es möglich, daß der Tractus tectopontinus stark reduziert ist und deshalb in der vorliegenden Arbeit nicht nachgewiesen werden konnte. Dafür sprechen auch Ergebnisse von Schweizer (1981), der bei Rhinolophus ferrumequinum zeigen konnte, daß der tectopontine Trakt seinen Ursprung bei dieser Fledermaus im IC hat und somit akustische Information zum Kleinhirn leitet. Über die aufsteigenden Bahnen zum SC wurde bisher bei Laborsäugetern wenig berichtet (Altman und Carpenter, 1961). Gar nichts fand ich über den bei der Fledermaus so mächtig entwickelten Tractus spinotectalis. Nicht nachgewiesen werden konnte in der vorliegenden Arbeit eine von Henkel bei der Katze (1981) beschriebene absteigende Bahn, die im SC entspringt und in der paralemniscalen Zone endet.

Die vorliegende Arbeit zeigt also, daß es nur zwei haupteffferente Systeme des SC gibt. Das erste verbindet die beiden Colliculi superiores miteinander, das zweite läuft als Tractus tectospinalis durch die Medulla oblongata und scheint im Bereich der motorischen Hirnnervenkerne und im Vorderhorn des Rückenmarks zu enden.

5.4 Projektionen

Beide verwendete Methoden haben dieselben afferenten Projektionen zum Colliculus superior ergeben. Afferenzen bekommt der SC von:

Cortex :In weiten Bereichen der Schicht V des Neocortex waren Zellen markiert. Vergleicht man diese Gebiete von ihrer Lage her mit denen bei anderen Säugern, so entsprechen sie dem somatosensorischen, motorischen, auditorischen und visuellen Cortex, der Area cinguli und dem postcingulären Cortex.

Zwischenhirn: Thalamus -Zona incerta-

Hypothalamus -Nc. ventromedialis hypothalami-

Substantia nigra -von der Lage her, Pars
reticulata-

Mittelhirn: Colliculus superior

Colliculus inferior (nur sehr wenig markierte Zellen)

Cerebellum: Nc. medialis cerebelli

Nc. lateralis cerebelli

Medulla oblongata: Nc. sensoris principalis nervi trigemini

und Rückenmark Nc. gracilis

Nc. cuneatus

Nc. tractus solitarius

Nc. cervicalis lateralis

Cornu posterior des Cervicalmarks

Formatio reticularis

Im folgenden sollen diese Projektionen zu funktionellen Gruppen zusammengefaßt diskutiert werden.

Daran anschließend folgt eine allgemeine Diskussion über die mögliche Rolle des SC.

Höreingänge

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde gezeigt, daß Neurone des SC auf Hörreize antworten. Es ist deshalb zu fordern, daß der SC direkte oder indirekte Eingänge aus Hörzentren erhält. Wie diese Arbeit gezeigt hat, erhält der SC massive Projektionen nur aus der Schicht V des auditorischen Cortex im Stratum griseum intermediale und profundum. Nur wenige Zellen sind in einem weiteren Hörkern, dem Colliculus inferior, zu finden. Bei allen fünf HRP-Experimenten gab es kein augenfälliges Faserbündel zwischen IC und SC. Ein solches Bündel müßte wegen der Nähe zum Injektionsort, wenn es vorhanden wäre, deutlich zu sehen sein.

Seheingänge

Mit Ausnahme des visuellen Cortex, wurden bei der Fledermaus keine subcorticalen Projektionen von Sehgebieten zum SC nachgewiesen. Bei der Katze (Edwards et al., 1979) wurde über Projektionen aus dem ventralen lateralen Geniculatum zum SC berichtet. Da bei der Fledermaus die Echoortung vermutlich über das Sehvermögen dominiert, ist es zu erwarten, daß die Seheingänge geringfügiger sind, als bei anderen Säugern.

Somatosensorische Eingänge

Die meisten Projektionen zu den mittleren und tieferen Schichten des SC haben ihren Ursprung in somatosensorischen Kerngebieten. Es handelt sich um den somatosensorischen Cortex, den Nc. cuneatus, Nc. gracilis, Nc. tractus solitarius, Nc. sensoris principalis nervi trigemini, die lateralen cervicalen Kerne, sowie das Hinterhorn des Cervicalmarks. Dieselben Projektionen, mit Ausnahme des Nucleus tractus solitarius wurden auch bei der Katze nachgewiesen (Edwards et al., 1979; Baleyrier und Maugiere, 1978).

Im Gegensatz zu der Katze, wo der Nc. gracilis schwächer markiert ist, als der Nc. cuneatus, zeigen beide Kerne bei der Fledermaus ähnlich starke Markierungen. Der Nc. gracilis bekommt Informationen von der unteren Hälfte des Körpers

und der Nc.cuneatus von der oberen Körperhälfte. Eine Erklärung für die unterschiedlich starken Markierungen könnte folgende Überlegung sein. Beim Mausfangen spielen die vorderen Extremitäten der Katze eine wichtigere Rolle als die Hinterbeine. Die Katze muß ihre Pfoten ganz genau einsetzen, um die Maus fangen zu können. Bei der Fledermaus sieht es anders aus: Die Flügel bestehen aus einer dünnen Haut, die die Vorderbeine mit den Hinterbeinen, sowie die Hinterbeine mit dem Schwanz verbindet. Die Fledermaus verwendet die Flügel nicht nur zum Fliegen, sondern auch als Netz, um ihre Beute zu fangen: Sie fängt das Insekt mit ihren Flügeln und nimmt es aus diesem Netz zum Mund, um es zu fressen. Dies könnte eine Erklärung sein, warum trotz schwach ausgebildeter Hinterbeine die Projektionen beider Hinterstrangkerns nahezu gleich stark erscheinen.

Über die Funktion der anderen gefundenen somatosensorischen Eingänge, sensorischer Trigeminus Kern, Nc. tractus solitarius, lateraler Kern und Hinterhorn des Cervicalmarks, ist wenig bekannt. Der SC erhält also somatosensorische Eingänge nicht nur über die Hinterstrangkerns von den Vorder- und Hinterextremitäten, sondern auch aus Bereichen, die von Trigeminus, Vagusgruppe, und Cervicalnerven sensorisch innerviert werden. Projektionen vom Nc. tractus solitarius zum SC wurden bei der Katze nicht beschrieben. Dieser Kern erhält sensorische und sensible Fasern über den Vagusnerv. Der Vagusnerv innerviert sensorisch und sensibel unter anderen die Geschmacksknospen, den äußeren Gehörgang, das Trommelfeld und über den inneren Ast des oberen Larynxnerven auch den Kehlkopf. Bis heute ist allerdings nicht bekannt, ob dieser Ast neben der Kehlkopfschleimhaut auch die Kehlkopfmuskulatur sensorisch innerviert. Eine solche Innervierung wäre für Fledermäuse, die sich mit Ultraschall orientieren, von großer Bedeutung. Daß bei der Katze keine zum SC projizierenden Neurone im Nc. tractus solitarius gefunden wurden, kann aber auch an der unterschiedlichen Methode liegen. Die Ergebnisse an der Katze (Edwards et al., 1979) wurden mit der HRP-Methode gewonnen. Die in dieser Arbeit zusätzlich verwendete Fluoreszenztracer-Methode hat sich, was die Anzahl markierter Neurone betrifft, der

HRP-Methode als Überlegen erwiesen. Zudem sind die Transportstrecken bei der Katze wesentlich größer als bei Eptesicus fuscus.

Über die Funktion der direkten Eingänge aus den Cervicalkernen und dem Hinterhorn des Rückenmarks könnten neuere Beobachtungen von Schmidbartl und Schweizer (persönliche Mitteilung) Aufschluß geben. Sie fanden bei der Fledermaus Rhinolophus rouxi, daß die Ohrmuskulatur mit hoher Wahrscheinlichkeit sensorisch über die Cervicalbereiche innerviert werden, die in der vorliegenden Arbeit zum SC projizieren. Über eine solche Projektion könnte die Stellung der Pinna mit anderen sensorischen Eingängen verrechnet werden.

Formatio reticularis

Fluoreszenztracer und Meerrettichperoxidase haben starke SC-Afferenzen aus der Substantia nigra, pars reticulata (SNR) bei der Fledermaus Eptesicus fuscus nachgewiesen. Über diese starken Projektionen wurde auch bei der Katze (Edwards et al., 1979; Warton et al., 1983) und beim Affen (Beckstead 1983) berichtet. Fasern die ihren Ursprung in der SNR haben, senden lange Collateralen zu den mittleren Schichten des SC, zum Thalamus und zur Formatio reticularis (Beckstead, 1983). SNR schickt auch Fasern zu den Nuclei des Thalamus, die selbst den Praemotorcortex und die Formatio reticularis beeinflussen. Allgemein wird der Substantia nigra eine Rolle im extrapyramidalen motorischen System zugeschrieben. Für die vermutete Rolle des SC bei somatosensorischen und motorischen Reaktionen scheint diese SNR-Projektion eine wichtige Funktion zu haben. Die SNR ist das einzige Kerngebiet, wo doppelmarkierte Zellen entdeckt wurden. Ebenso wie die Substantia nigra wird auch die Zona incerta dem extrapyramidalen motorischen System zugeordnet. Über die Funktion der übrigen Projektionen aus der Formatio reticularis im Bereich des Facialiskerns und des No. ambiguus kann zu dieser Zeit nichts ausgesagt werden.

Cerebellum

Sowohl die medialen als auch die lateralen Kleinhirnkerne projizieren zu den tieferen Schichten des SC. Projektionen aus dem Cerebellum wurden auch im SC der Katze (Edwards et al., 1979; Roldan und Reinoso-Suarez, 1981) und beim Affen (Beckstead, 1983) nachgewiesen. Eine elektronenmikroskopische Untersuchung der Projektionen aus dem Cerebellum im SC der Katze (Walton et al., 1983) ergab nach Verletzungen des Brachium conjunctivum zwei verschiedene Terminaltypen im SC. Obwohl die Autoren die Ursprünge dieser Projektionen nicht genannt haben, kann man behaupten, daß sie von den Nc. lateralis und Nc. medialis cerebelli herkommen. Die Cerebellum-Projektionen spielen vermutlich bei anderen Tieren eine Rolle bei oculomotorischen Reaktionen.

Wie Schweizer (1981) zeigen konnte besitzt Rhinolophus ferrumequinum einen stark ausgeprägten Tractus tectopontinus, der im Colliculus inferior entspringt und in den lateralen Ponskernen endet. Die lateralen Ponskerne projizieren ins Kleinhirn. Über diese Bahn wäre es möglich, daß Hörinformation aus dem IC über die Pons das Cerebellum erreicht und von dort, verrechnet mit anderen Cerebellumeingängen, wie z.B. dem Vestibularissystem, den SC erreicht.

Eine Zusammenfassung dieser Projektionen ist in Abbildung 37 dargestellt.

5.5 Allgemeine Diskussion

Allgemein betrachtet stimmen die vorliegenden Daten mit denen von anderen Säugern überein. Einige Projektionen konnten jedoch bei der Fledermaus nicht nachgewiesen werden, wie zum Beispiel aus dem ventralen lateralen Geniculatum oder in die paralemniscare Zone (Edwards et al., 1979). Henkel und Edwards (1978) haben eine Teilnahme der ipsilateralen paralemniscaren Zone in der Kontrolle der contralateralen Ohrmuschelbewegung vorgeschlagen.

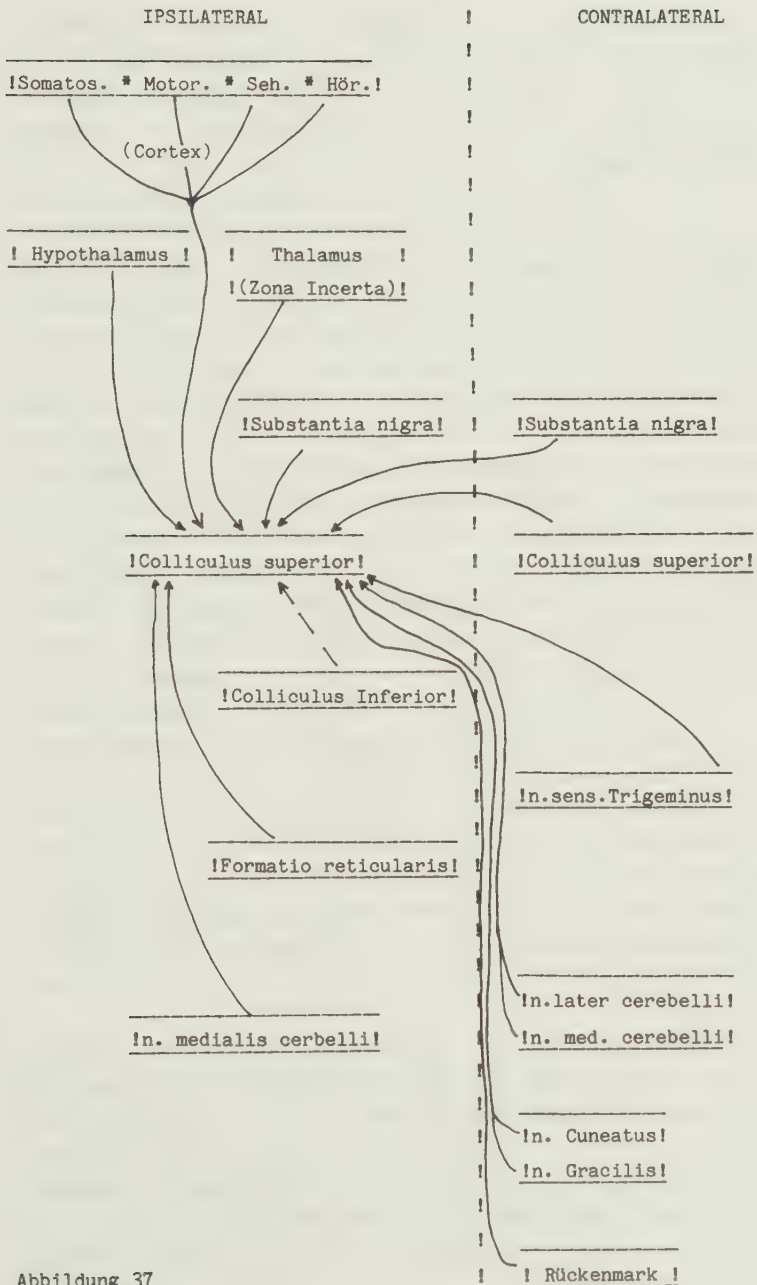


Abbildung 37

Betrachtet man die anatomischen Ergebnisse dieser Arbeit zusammenfassend, so kann man folgende Überlegungen über eine mögliche Funktion der tiefen Schichten des Colliculus superior bei Fledermäusen und sicher übertragen auch bei anderen Säugertieren machen:

Der SC erhält direkte oder indirekte Eingänge aus allen sensorischen Systemen. Sein Ausgang, der Tractus tectospinalis und tectobulbaris ist motorisch. Er ist darüberhinaus direkt in das motorische System eingeschaltet, denn er erhält Eingänge aus dem motorischen Cortex und aus dem extrapyramidalen System über die Substantia nigra und die Zona incerta.

Die wichtigsten sensorischen Systeme, die im SC konvergieren und dort in motorische Befehle an die Medulla- und Rückenmarksmotoneurone verarbeitet werden, sind das Hörsystem, direkt über den auditorischen Cortex und indirekt mit Umschaltung in Pons und Cerebellum über den IC, das Sehsystem hauptsächlich über den visuellen Cortex, das Vestibularis System über das Kleinhirn und die Systeme der Oberflächen- und Tiefensensibilität über somatosensorischen Cortex, Trigemini, Vagus, die Hinterstrangkern und das Hinterhorn des Rückenmarks.

Durch Integration dieser sensorischen Eingänge könnte der SC Einfluß nehmen auf die Gesichts- und Kiefermuskulatur, auf die Flugmuskulatur und die übrige Körpermotorik.

Wie der erste Teil dieser Arbeit gezeigt hat, beeinflusst das Hörsystem tatsächlich die SC-Neurone. Wie sich die anderen erwähnten Systeme auf diese Neurone auswirken, müßte in weiteren Arbeiten gezeigt werden. Ebenfalls Gegenstand weiterer Untersuchungen müßte sein, wie das Zusammenspiel mehrerer somatosensorischer Eingänge das Verhalten von SC-Neuronen beeinflusst.

Völlig ungeklärt ist bisher auch, wie sich der Ausgang des SC auf das Verhalten der motorischen Systeme auswirkt. Anatomisch und physiologisch müßte geklärt werden, ob der Tractus tectobulbaris und tectospinalis direkt die Motoneurone der Hirnnervenkerne beeinflusst oder, ob die efferenten SC-Neurone direkt oder über Interneurone die motorischen Muster, die das pyramidale und extrapyramidale motorische System liefert, moduliert.

Durch die Konvergenz aller sensorischen Systeme im SC und seinen motorischen Ausgang, scheint der SC eine wichtige Stellung im Echoortungssystem der Fledermaus zu haben; Wenn die Fledermaus ein interessantes Echo, wie z.B. einen Insektenflügelschlag, empfängt, könnte der SC dafür sorgen, daß erstens der Kopf und zweitens der ganze Körper in Richtung auf die Schallquelle ausgerichtet wird, so daß die Flugrichtung geändert würde, um den Beutefang zu ermöglichen. Um diese Hypothese testen zu können, wäre es ideal, am fliegenden Tier (in einem "Windkanal") aus dem SC ableiten zu können, um das Verhalten von SC-Neuronen bei Flug- und Beutefangmanövern, ausgelöst z.B. durch vorgespielte Insektenlaute, registrieren zu können.

Weitere neuroanatomische Untersuchungen sollten die Efferenzen des Colliculus superior, mittels anterogradem Transport von z.B. Phaseolus vulgaris leucoagglutinin -"red kidney bean Lectin (Gerfen und Sawchenko, 1983)- oder mit Hilfe von autoradiographischen Methoden bestimmen.

6. Literaturverzeichnis

- Adams JC (1977) Technical considerations on the use of Horseradishperoxidase as a neuronal marker. *Neurosci* 2:141-145
- Altman J, Carpenter MB (1961) Fiber projections of the superior colliculus in the cat. *J Comp Neurol* 116: 157-177
- Aschoff A, Fritz N, Illert M (1982) Axonal transport of fluorescent compounds in the brain and spinal cord of cat and rat. In *Axonal transport in physiology and pathology*, Springer Verlag Berlin:177.187
- Baleydier C, Maugiere F (1978) Projections of the ascending somesthetic pathways to the cat superior colliculus visualized by the Horseradish peroxidase technique. *Brain Res* 31: 43-50
- Beckstead RM (1983) Long collateral branches of Substantia Nigra pars reticulata axons to Thalamus, superior colliculus and reticular formation in monkey and cat. Multiple retrograde neuronal labeling with fluorescent dyes. *Neurosci* 10 (3): 767-779
- Casseday JH, Jones DR, Diamond IT (1979) Projections from cortex to tectum in the tree shrew, Tupaia glis. *J Comp Neurol* 185: 253-291
- Chalupa LM, Rhoades RW (1977) Responses of visual somatosensory and auditory neurons in the golden hamster's superior colliculus. *J Physiol (London)* 270: 595-626
- Dräger UC, Hubel DH (1975) Responses to visual stimulation and relationship between visual, auditory and somatosensory inputs in mouse superior colliculus. *J Neurophysiol* 38: 690-713

- Edwards SB, Henkel CK (1978) Superior colliculus connections with the extraoculomotor nuclei in the cat. *J Comp Neurol* 179: 451-468
- Edwards SB, Ginsburgh CL, Henkel CK, Stein BE (1979) Sources of subcortical projections to the superior colliculus in the cat. *J Comp Neurol* 184: 309-330
- Gerfen CR, Sawchenko PE (1982) Immunohistochemical localization of axonally transported PHA.L lectin to demonstrate the fine morphological details of efferent connections in the CNS. *Soc Neurosci Abstr* 8: 782
- Gordon B (1973) Receptive fields in the deep layers of the cat superior colliculus. *J Neurophys* 36: 157-178
- Henkel CK (1981) Afferent sources of a lateral midbrain tegmental zone associated with the pinnae in the cat as mapped by retrograde transport of horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 203: 213-226
- Henkel CK, Edwards SB (1978) The superior colliculus control of pinna movements in the cat: possible anatomical connections *J Comp Neurol* 182: 763-776
- Holländer H, Schönitzer K (1983) Corticotectal terminals in the superior colliculus of the rabbit: a light and electron microscopic analysis using HRP and TMB. *J Comp Neurol* 219: 81-87
- Horn G, Hill RM (1966) Responsiveness to sensory stimulation of units in the superior colliculus and subjacent tectotegmental regions of the rabbit. *Exptl Neurol* 14: 199-223
- Jen PH-S, Schlegel P (1980) Neurons in the cerebellum of echolocating bats respond to acoustic signals. *Brain Res* 196: 502-507

Knudsen EI, Knudsen PF (1983) Spaced mapped auditory projections from the inferior colliculus to the optic tectum in the barn owl (Tyto alba). J Comp Neurol 218: 187-196

Mesulam MM (1978) Tetramethylbenzidine for Horseradish peroxidase neurohistochemistry: a non carcinogenic blue reaction product with superior sensitivity for visualizing neural afferents and efferents. J Histochem Cytochem 26: 106-117

Paula-Barbosa MM, Sousa-Pinto A (1973) Auditory cortical projections to the superior colliculus in the cat. Brain res 50: 47-61

Rauschecker JP, Harris LR (1983) Auditory compensation of the effects of visual deprivation in the cat's superior colliculus. Exptl Brain Res 50: 69-83

Robinson DL, Jarvis CD (1974) Superior colliculus neurons studied during head and eye movements of the behaving monkey. J Neurophys 37: 533-540

Roldan M, Reinoso-Suarez F (1981) Cerebellar projections to the superior colliculus in the cat. J Neurosci 1: 827-834

Schweizer H (1981) The connections of the inferior colliculus and the organization of the brainstem auditory system in the greater horseshoe bat, Rhinolophus ferrumequinum. J Comp Neurol 201: 25-49

Taylor DCM, Pierau FrK, Schmid T (1983) The use of fluorescent tracers in the peripheral sensory nervous system. Neurosci Meth 8: 211-224

Van Noort (1934) The structure and connections of the inferior colliculus. An investigation of the lower auditory system. Van Gorcum & Comp. N.V. (Dr HJ Prakke and HMG Prakke eds)

Warton S, Jones DG, Ilinsky IA, Kultas-Ilinsky K (1983) Nigral and cerebellar synaptic terminals in the intermediate and deep layers of the cat superior colliculus revealed by lesioning studies. *Neurosci* 10: 789-800

Wenstrup JJ, Suthers RA (1981) Do lesions of the SC affect acoustic orientation in echolocating bats? *Physiol Behav* 27: 835-839

DANKSAGUNG

Die Untersuchung wurde durch Sachmittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft SFB 204 und durch einem Stipendium des Deutschen Akademischen Austausch Dienstes ermöglicht.

Herrn Professor G. Neuweiler danke ich für die Überlassung des Themas und seine freundliche Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. P. Schlegel für seine ständige Diskussionsbereitschaft sowie seine technische Unterweisung beim Aufbau der Apparatur und anregende Diskussion zur Erstellung des Manuskripts.

Für seine Assistenz bei der neuroanatomischen Untersuchung sowie für seine ständige Diskussionsbereitschaft und seine Hilfe beim Korrigieren des Manuskripts bedanke ich mich herzlich bei Herrn Dr. H. Schweizer.

Frau H. Kaupenjohann bin ich für ihre freundliche Mithilfe bei histologischen Arbeiten und Frau H. Tscharncke für die Erstellung der Photographien sehr verbunden.

Den Mitgliedern der Arbeitsgruppe Neuweiler am Zoologischen Institut der Universität Münchens danke ich für anregende Diskussionen zu dieser Themenstellung und für ihre ständige Hilfsbereitschaft.

Ich bedanke mich bei den Professoren MB Fenton und PH-S Jen für die Bereitstellung der Versuchstiere.

Diese Arbeit wurde von mir selbstständig und mit Hilfe der angegebenen Mittel durchgeführt.

LEBENS LAUF

23.02.1959: Geboren in Royan (Frankreich)

Mutter: Yvonne Poussin; Beruf: Sekretärin

Vater : Jean Poussin; Beruf:Vertreter (+)

1964-1969 : Besuch der Ecole primaire de La Clairiere in Royan

1969-1972 : Besuch des College d'Enseignement Superieur Emile
Zola in Royan

1972-1976 : Besuch des Gymnasiums in Royan

21.06.1976: Abitur

1976-1980 : Studium der Biologie und der Informatik an der
Universität Poitiers

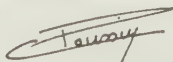
21.06.1980: Maitrise de Sciences et Techniques, option Genie
Physiologique

1980-1982 : 18-monatiger Aufenthalt im Labor von Professor Dr.
J.A. Simmons in Eugene, Oregon U.S.A.

März 1982 : Master's Degree of Science mit der experimentellen
Arbeit:"Low frequency hearing in the echolocating
bat, Eptesicus fuscus". April 1983 wurde als
Diplomarbeit bei der Fakultät für Biologie der
Universität Münchens anerkannt.

01.11.1982: Beginn der Promotionsarbeit im Zoologischen Institut
Münchens, finanziell unterstützt von einem DAAD
Stipendium.

1984 : Abschluß der Promotionsarbeit



Catherine Poussin

